

AUS DEM INSTITUT FÜR CHIRURGISCHE FORSCHUNG
(Prof. Dr. Dr. h. c. W. Brendel)
AN DER CHIRURGISCHEN KLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
(Prof. Dr. Dr. h. c. R. Zenker)

UNTERSUCHUNGEN ZUM MECHANISMUS DER HYPERAKUTEN XENOGENEN AB-
STOSSUNGSREAKTION MIT DER METHODE DER ISOLIERTEN ORGANPERFUSION

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Höhen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von
Albrecht Schilling
aus Freiburg

München 1972



Gedruckt mit der Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Dr. h. c. W. Brendel

Mitberichterstatter: Prof. Dr. F. Sebening

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 25.7.1972

INHALTSVERZEICHNIS

I. EINLEITUNG

II. METHODIK

- I. Allgemeine Versuchsanlagen
- II. Versuchsanordnungen
- III. Versuchsanordnungen
- IV. Versuchsanordnungen
- V. Versuchsanordnungen
- VI. Versuchsanordnungen
- VII. Versuchsanordnungen
- VIII. Versuchsanordnungen
- IX. Versuchsanordnungen
- X. Versuchsanordnungen
- XI. Versuchsanordnungen

Meinem Vater gewidmet.

III. ERGEBNISSE

1. Versuchsanordnungen
2. Versuchsanordnungen
3. Versuchsanordnungen
4. Versuchsanordnungen
5. Versuchsanordnungen
6. Versuchsanordnungen
7. Versuchsanordnungen
8. Versuchsanordnungen
9. Versuchsanordnungen
10. Versuchsanordnungen
11. Versuchsanordnungen
12. Versuchsanordnungen
13. Versuchsanordnungen
14. Versuchsanordnungen
15. Versuchsanordnungen
16. Versuchsanordnungen
17. Versuchsanordnungen
18. Versuchsanordnungen
19. Versuchsanordnungen
20. Versuchsanordnungen
21. Versuchsanordnungen
22. Versuchsanordnungen
23. Versuchsanordnungen
24. Versuchsanordnungen
25. Versuchsanordnungen
26. Versuchsanordnungen
27. Versuchsanordnungen
28. Versuchsanordnungen
29. Versuchsanordnungen
30. Versuchsanordnungen
31. Versuchsanordnungen
32. Versuchsanordnungen
33. Versuchsanordnungen
34. Versuchsanordnungen
35. Versuchsanordnungen
36. Versuchsanordnungen
37. Versuchsanordnungen
38. Versuchsanordnungen
39. Versuchsanordnungen
40. Versuchsanordnungen
41. Versuchsanordnungen
42. Versuchsanordnungen
43. Versuchsanordnungen
44. Versuchsanordnungen
45. Versuchsanordnungen
46. Versuchsanordnungen
47. Versuchsanordnungen
48. Versuchsanordnungen
49. Versuchsanordnungen
50. Versuchsanordnungen
51. Versuchsanordnungen
52. Versuchsanordnungen
53. Versuchsanordnungen
54. Versuchsanordnungen
55. Versuchsanordnungen
56. Versuchsanordnungen
57. Versuchsanordnungen
58. Versuchsanordnungen
59. Versuchsanordnungen
60. Versuchsanordnungen
61. Versuchsanordnungen
62. Versuchsanordnungen
63. Versuchsanordnungen
64. Versuchsanordnungen
65. Versuchsanordnungen
66. Versuchsanordnungen
67. Versuchsanordnungen
68. Versuchsanordnungen
69. Versuchsanordnungen
70. Versuchsanordnungen
71. Versuchsanordnungen
72. Versuchsanordnungen
73. Versuchsanordnungen
74. Versuchsanordnungen
75. Versuchsanordnungen
76. Versuchsanordnungen
77. Versuchsanordnungen
78. Versuchsanordnungen
79. Versuchsanordnungen
80. Versuchsanordnungen
81. Versuchsanordnungen
82. Versuchsanordnungen
83. Versuchsanordnungen
84. Versuchsanordnungen
85. Versuchsanordnungen
86. Versuchsanordnungen
87. Versuchsanordnungen
88. Versuchsanordnungen
89. Versuchsanordnungen
90. Versuchsanordnungen
91. Versuchsanordnungen
92. Versuchsanordnungen
93. Versuchsanordnungen
94. Versuchsanordnungen
95. Versuchsanordnungen
96. Versuchsanordnungen
97. Versuchsanordnungen
98. Versuchsanordnungen
99. Versuchsanordnungen
100. Versuchsanordnungen

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A) EINLEITUNG	2
B) METHODIK	5
I. Allgemeine Bemerkungen	5
II. Perfusionssystem	5
III. Versuchstiere	7
IV. Nephrektomie	8
V. Perfusionsvorgang	8
VI. Perfusat	9
VII. Serologische Untersuchungen	13
VIII. Histologische Untersuchungen	17
IX. Messungen	17
X. Berechnungen	18
XI. Versuchsprogramm	19
C) ERGEBNISSE	20
I. Charakterisierung der durch die Kartonelektrophorese erhaltenen Fraktionen im Vergleich mit Vollserum	20
1. Immunelektrophoretische Analyse	20
2. Komplementlokalisierung nach Ouchterlony	21
3. Bestimmung des C'H 50 Titors	21
4. Serologische Aktivität	21
II. Xenohämoperfusion	23
1. Versuchsbedingungen	23
2. Das Verhalten der Nieren bei Perfusion mit den verschiedenen Perfusaten	25
3. Pathologische Befunde der Nieren	39

	Seite
D) DISKUSSION	47
I. Allgemeines	47
II. Diskussion der Methodik	48
III. Diskussion der Ergebnisse	60
E) ZUSAMMENFASSUNG	67
F) LITERATURVERZEICHNIS	69

ABKÜRZUNGEN:

HXAR	=	Hyperakute-Xenogene-Abstoßungsreaktion
RV	=	Ratten-Vollblut
HV	=	Hunde-Vollblut
GHE	=	Gelifundol + Hunde-Erythrozyten
ALZ	=	Albuminfraktion + Zellen (Hunde-Erythro-Leuko-Thrombozyten)
$\alpha_1 Z$	=	α_1 -Globulinfraktion + Zellen
$\alpha_2 Z$	=	α_2 -Globulinfraktion + Zellen
βZ	=	β -Globulinfraktion + Zellen
γZ	=	γ -Globulinfraktion + Zellen
AlE	=	Albuminfraktion + Erythrozyten (vom Hund)
$\alpha_1 E$	=	α_1 -Globulinfraktion + Erythrozyten
$\alpha_2 E$	=	α_2 -Globulinfraktion + Erythrozyten
βE	=	β -Globulinfraktion + Erythrozyten
γE	=	γ -Globulinfraktion + Erythrozyten

A) EINLEITUNG

Die Organverpflanzung von Tier auf Mensch ist auf Grund vieler Probleme bezüglich der Verfügbarkeit geeigneter humaner Spender bei der Verpflanzung unpaarer vitaler Organe anzustreben. Primaten wären unter immunologischen Gesichtspunkten die am besten geeigneten Organspender für den Menschen. Sie stehen aber in zu geringer Zahl zur Verfügung; aus diesem Grund muß nach anderen geeigneten Spendertieren gesucht werden, wobei eine entferntere Stammesverwandtschaft in Kauf genommen werden muß.

Limitierender Faktor bei Verwendung von Organen in entfernt stammesverwandten Speziessystemen ist das Phänomen der hyperakuten xenogenen Abstoßungsreaktion (im folgenden HXAR): Vaskularisierte Xenotransplantate werden in einem System mit entfernter Stammesverwandtschaft zwischen Spender und Empfänger innerhalb von Minuten bis Stunden nach Bluteintritt in das verpflanzte Organ abgestoßen. Die vier Hauptmerkmale dieser Abstoßungsreaktions sind:

1. schnelle Abnahme der Durchblutung, 2. Oedeme, Stauung und Hämorrhagie des Organs, 3. massive Endothelläsionen und 4. rasches Zusammenbrechen der Organfunktion (76). Derzeit kann mit keinem der üblichen immunsuppressiven Mittel diese Form der Abstoßungsreaktion aufgehalten werden, weil ihr Mechanismus noch weitgehend unaufgeklärt ist.

Zum Zeitpunkt der Inangriffnahme dieser Arbeit waren nur indirekte Hinweise über die mögliche Beteiligung einzelner Faktoren an der hyperakuten xenogenen Abstoßungsreaktion bekannt: CLARK, GEWURZ und VARCO (19) gelang es, unter Komplemententzug und Vorbehandlung mit Spenderantigenen die Abstoßungsreaktion zu verzögern. Nach abgelaufener hyperakuter xenogener Abstoßungsreaktion konnten CLARK, GEWURZ und VARCO (18) auf den Endothelzellen der transplantierten Niere präformierte Antikörper nachweisen. Vermutlich spielen präformierte humorale Antikörper, die zum Zeitpunkt der Xenotransplantation bereits im Kreislauf des Empfängers zirkulieren und unmittelbar mit bestimmten Gewebsantigenen des Spenderorgans spezifisch reagieren, bei der Abstoßung eine Rolle (45, 60).

Komplement, Leukozyten und Thrombozyten scheinen ebenfalls beteiligt zu sein (18, 19, 20, 60). Thrombozytenaggregate konnten histologisch in xenogen perfundierten Organen nachgewiesen werden (19, 56). Eine starke Abnahme der Thrombozytenzahl im Blut, das durch Xenotransplantate geströmt war, konnte gemessen werden (17, 60).

Der direkte Nachweis einer Beteiligung der oben angeführten Faktoren am komplexen Geschehen der hyperakuten xenogenen Abstoßungsreaktion ist durch eine getrennte Analyse der einzelnen Faktoren in einem definierten System möglich.

Zu diesem Zweck wurde in einer ersten Studie ein abgeschlossenes In-vitro-Organperfusionssystem entwickelt. Die Brauchbarkeit des Modells wurde mittels allogener In-vitro-Hämoperfusion (Ratte-Ratte) isolierter Nieren bewiesen (54). Als entfernt verwandtes Speziessystem wurde die Kombination Ratte-Hund gewählt, die neben der genetischen Entfernung zwei weitere Vorteile bot:

- a) beim Hund liegen hohe Titer präformierter Antikörper gegen Ratten vor,
- b) der experimentelle Aufwand konnte auf Grund der geringen Größe des zu perfundierenden Organs in Grenzen gehalten werden.

Voruntersuchungen hatten gezeigt, daß Rattennieren (Spenderorgane) durchschnittlich 15 - 25 min. nach Anschluß der A. renalis an die A. femoralis von Hunden (Empfängertiere) abgestoßen wurden. Bis zum Zeitpunkt der Abstoßung (Sistieren der Durchblutung) waren durchschnittlich 11 ml Hundevollblut pro 1 g Rattenniere durch das Transplantat geflossen (85).

Der Versuch einer isolierten Hämoperfusion von Rattennieren mit heparinisiertem Hundevollblut unter Verwendung des von uns entwickelten Modells zeigte analoge Ergebnisse: Bei konstant gehaltenem Perfusionsdruck kam es nach 15 - 45 min. zum Sistieren des Perfusionsvolumenstroms (53). Auch bei diesen Versuchen traten Hämorrhagie sowie Endothelläsion auf. Nachdem in diesen ersten Versuchen mit Hilfe des gewählten Modells die In-vitro-Reproduzierbarkeit der HXAR bewiesen werden konnte, waren nachfolgende Untersuchungen der Aufklärung der bei der Reaktion beteiligten Serumfraktionen gewidmet. Der experimentelle Ansatz zu dieser Fragestellung bestand darin, verschiedene Serumfraktionen isoliert auf

die Fähigkeit, die Symptome einer In-vitro-Abstoßungsreaktion hervorzurufen, zu prüfen, in dem die Spenderorgane isoliert mit den verschiedenen Serumfraktionen perfundiert wurden. Die Rolle der peripheren Blutzellen im Abstoßungsge-schehen sollte dabei mituntersucht werden.

B) METHODIK

I. Allgemeine Bemerkungen

Die vorliegenden Versuche wurden in der Zeit vom September 1969 bis zum November 1970 durchgeführt. Es wurde die von W. LAND und S. v. LIEBE (47) entwickelte Methodik verwendet. Technische Verbesserungen konnten an der Perfusionspumpe und am Oxygenator vorgenommen werden. In diesen Versuchen wurden die Spendertiere zudem mit hypotoner Kochsalzlösung belastet (s. S.7).

II. Perfusionssystem

Das verwendete System besteht aus einer Rollerpumpe, einer Perfusionskammer und einem Kapillaroxygenator (Abb. 1).

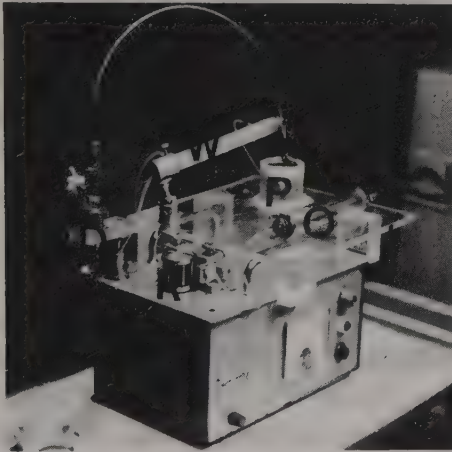


Abb. 1 Perfusionssystem in Arbeit. R = Rollerpumpe, W = Wärmeaustauscher, P = Perfusionskammer (venöses Reservoir), O = Kapillaroxygenator, D = Membrandruckmesser (Statham)

Es wurde eine nach MENDLER, WEISHAAR und BRENDDEL (64) angegebene Versuchsanordnung zur Ganzkörperperfusion von Ratten modifiziert.

1. Kreislauf

Die A. renalis der exziierten Niere wird auf einer feststehenden Kanüle (No 1) ligiert, so daß das Organ an dem Gefäß frei in einer trichterförmigen Perfusionskammer hängt, in der sich das venöse Blut aus der breit eröffneten V. renalis sammelt. Das isolierte Organ schwimmt so im Venenblut, daß durch Übersichtung mit Silikonöl⁺ unter Luftabschluß gehalten wird. Die Kammer wird innerhalb einer doppelten Wandung mit Heizwasser durchströmt. Das Blut fließt aus dem venösen Reservoir in den Kapillaroxygenator. Der Gasaustausch erfolgt gegen reinen O₂ durch die Kapillarwände. Aus dem Oxygenator wird das Blut von einer okklusiven Rollerpumpe abgesaugt. Unmittelbar vor der A. renalis befindet sich ein nach dem Gegenstromprinzip arbeitender Wärmeaustauscher. Wärmeaustausch und Perfusionskammer sind in einem Heizwasserkreislauf hintereinander in Serie geschaltet. Die Temperatur des Heizwassers wird durch einen Thermostat geregelt. Über einen im venösen Reservoir befindlichen Thermofühler kann die eingestellte Temperatur kontrolliert werden. Auf diese Weise kann die Temperatur im Umgebungsmilieu des perfundierten Organs (venöses Reservoir) und die des Perfusats auf $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5$ gehalten werden. Der Perfusionsdruck wird seitenständig an der arteriellen Kanüle über ein Statham Element⁺⁺ gemessen. Durch Siliconkautschuk-Schläuche sind die Kreislaufelemente hintereinander geschlossen.

2. Rollerpumpe

Sie besitzt 5 gleitgelagerte Walzen, die einen Schlauch auspressen. Die entstehende Druckamplitude beträgt 14 mm Hg. Die Achse der Pumpe läuft in 2 Kugellagern. Der Antrieb erfolgt durch einen 220 V Wechselstrommotor. Über ein Reibradgetriebe kann die Umdrehungszahl stufenlos von 4 bis 110 min^{-1} reguliert werden. Das entspricht bei einem Hub von 0,07 ml/U einem Perfusionsvolumenstrom von 0,28 bis 7,7 ml/min. Die bei den Vorversuchen verwandte Technik, die Pumpe mittels einer Schablone okklusiv zu stellen, wurde geändert. Ein Steigrohr, das nach oben in ein Reservoir mündet, wird an ein Ende des Pumpenschlauches angeschlos-

+ Silikonöl AK250 Wacker Chemie München

++ Statham Laboratories Inc., Hato Wey/Puerto Rico

sen. Durch eine Spindel kann der Pumpenbacken mit kontinuierlich steigerbarem Druck gegen den Schlauch gepreßt werden, bis keine Flüssigkeit mehr aus dem freien Schlauchende strömt. So kann bei einer Steigrohrhöhe von 2 m die Pumpe auf $0,2 \text{ kp/cm}^2$ okklusiv gestellt werden.

3. Oxygenator

Der Kapillaroxygenator ist eine Weiterentwicklung des von MARX und BRENDEL angegebenen Typs (62). Er besteht aus einem Bündel von 37 Silikonkautschukschläuchen⁺ (0,7 mm $\varnothing$, 0,1 mm Wandstärke, 150 mm Länge), das an beiden Enden jeweils in einem Metallraster vergossen wurde. Ein- und Ausfluß sind mit einer verschraubbaren Plexiglaskuppel verschlossen, die in ihrem Scheitel eine konische Bohrung für die Schlauchanschlüsse besitzt. Das vergossene Bündel wurde derart in eine Hülse aus Plexiglas gehängt, daß die Kapillaren unter leichter Spannung stehen. Aus einem den Kapillaren parallel angeordneten Lufrrohr mit 15 Bohrungen wird das Kapillarbündel senkrecht zur Verlaufsrichtung mit reinem O_2 (1 l/min) angeblasen.

III. Versuchstiere

Als Spendertiere wurden koloniegezüchtete männliche Sprague-Dawley-Ratten mit einem Gewicht von 180 - 250 g verwendet (Tierzucht Bäumler, Wolfratshausen). An Nahrung erhielten die Tiere Fertigfutter (Altromin-R), sowie Wasser ad libitum. 45 min. vor Beginn der Operation wurden die Spenderratten in einer Ätherkurznarkose⁺⁺ mit hypotoner Kochsalzlösung (0,45 %, 5 ml/100 g) belastet. Die Flüssigkeit wurde über eine Sonde in den Magen des Tieres injiziert.

Hundeblut zur Hämoperfusion von Rattennieren wurde fünf, über die gesamten Versuche beibehaltenen, mischrassigen Tieren beiderlei Geschlechts mit einem Gewicht von 20 - 35 kg entnommen. Die Tiere wurden über die gesamte Versuchsdauer in einem Zwinger des Instituts, sonst in einem Freigehege gehalten. An Nahrung wurden an sie gekochte Reisfleischgerichte und Wasser ad libitum verfüttert.

+ Silikon-Kautschuk-Schläuche, Detakta Isolier- und Meßtechnik, Hamburg 39

++ "Äther zur Narkose", Farbwerke Höchst AG., Frankfurt (Main)

IV. Nephrektomie

Die Spendertiere wurden mit Chloralhydrat (360 mg/kg KG) anästhesiert und die Bauchhöhle durch einen Medianschnitt eröffnet. Der linke Ureter wurde freipräpariert, durch eine distale Unterbindung gestaut und nach Inzision mit einem Polyäthylenkatheter⁺ (Intramedic PE 10) kanüliert. Die linke Niere wurde freipräpariert, der Gefäßstiel dargestellt, das Organ unter Erhaltung eines Aortenpatches excidiert und in das Perfusionssystem gebracht. Kurz vor der Excision wurden aortal 750 E Heparin⁺⁺ injiziert.

V. Perfusionsvorgang

Die In-vitro-Perfusion isolierter Nieren wurde im allgemeinen 3 - 5 min. nach Abklemmen der Aorta und der V. cava des Spendertieres eingeleitet. Drei Phasen der anlaufenden Perfusion wurden unterschieden:

1. Vorperfusion der Niere mit der im System vorgegebenen Ringerlösung unter einem Perfusionsdruck von 40 bis 60 mm Hg zum Auswaschen von restlichem Blut im Spenderorgan bis zum Auftreten einer makroskopisch blaßweißen bis hellbraunen Färbung der Nierenoberfläche.
2. Stufenweise Steigerung bis zu einem Druck von 100 - 110 mm Hg. Nieren, bei denen nicht bis zum Ende der 2ten Phase Perfusionsvolumina von mindestens 1,5 ml/g x min erreicht werden konnten, wurden aus dem Versuch genommen.
3. Bluteintritt in das Organ (Beginn der Hauptperfusion). Vorsichtige Regulierung der Drehzahl der Pumpe, so daß ein Druck von 110 mm Hg nicht überschritten wurde. Auftretende Druckanstiege über 110 mm Hg wurden im weiteren Verlauf der Perfusion durch Reduzierung des Perfusionsvolumenstroms (= Reduktion der Pumpendrehzahl) ausgeglichen. Die Organperfusion wurde abgebrochen, einmal bei Absinken des Perfusionsvolumenstromes unter 0,30 ml/g x min., zum anderen bei ausreichendem Perfusionsvolumen nach 120minütiger Beobachtungszeit.

+ Intramedic Polyethylene Tubing, Clay-Adams Inc. New York

++ Heparin-Novo^R, Novo-Industrie GmbH, Mainz

VI. Perfusat

Das Ausgangshämoperfusat bestand aus 10 ml heparinisiertem Hundeblut (750 E Heparin/10 ml Blut), das den Hunden unmittelbar vor dem Versuch venös an den Brachialvenen der Vorderpfoten abgenommen wurde. Das Blut wurde mit 14 ml Ringerlösung im künstlichen Kreislauf diluiert und auf pH 7,3 - 7,4 eingestellt. In den folgenden Versuchen wurde die Zusammensetzung der Zellen und des Serums im xenogenen Perfusat variiert.

Die Präparation der verschiedenen xenogenen Hämoperfusate ist schematisch in Abb. 2 dargestellt.

1. Vorbereitung der Blutzellen

Um den bei der Präparation der Zellen auftretenden Verlust an Zellmaterial auszugleichen, wurde statt von 10 ml Blut von einem Erfahrungswert von 13 ml ausgegangen. Abschließende Zellzählungen belegten diesen Wert. Diese 13 ml Blut wurden nach venöser Punktion in 2,5 ml EDTA aufgezogen.

a) Thrombocyten: Jeder Arbeitsgang wurde in silikonisierten Röhrchen durchgeführt. 15,5 ml EDTA Blut wurden mit 2 ml Dextran* und 8 ml physiologischer NaCl versetzt und bei 1400 U/min. über 20 min. in 25 ml-Röhrchen zentrifugiert. Der erhaltene Überstand wurde bis auf 1 ml über der Leukozytenzone abgehoben, in 2 weiteren Röhrchen auf 25 ml mit phys. NaCl aufgefüllt und 30 min. bei 1600 U/min. zentrifugiert. Der Überstand wurde abgesaugt und der Rückstand in je 2 ml physiologischer NaCl unter vorsichtigem Rühren resuspendiert. Darauf folgte die mikroskopische Prüfung auf eventuelle Agglutinationen.

b) Leukozyten: Der Rückstand aus dem ersten Röhrchen wurde vorsichtig aufgeschüttelt und nach weiterer Zugabe von 2 ml Dextran, 1 ml EDTA und 10 ml physiologischer NaCl wurde erneut 20 min. bei 1400 U/min. zentrifugiert. Nach Absaugen des Überstandes bis auf 1 ml über der Leukozytenzone konnten die Leukozyten abgehoben werden. Prüfung auf Agglutination.

*Dextran MG 250 000 3%ig in phys. NaCl

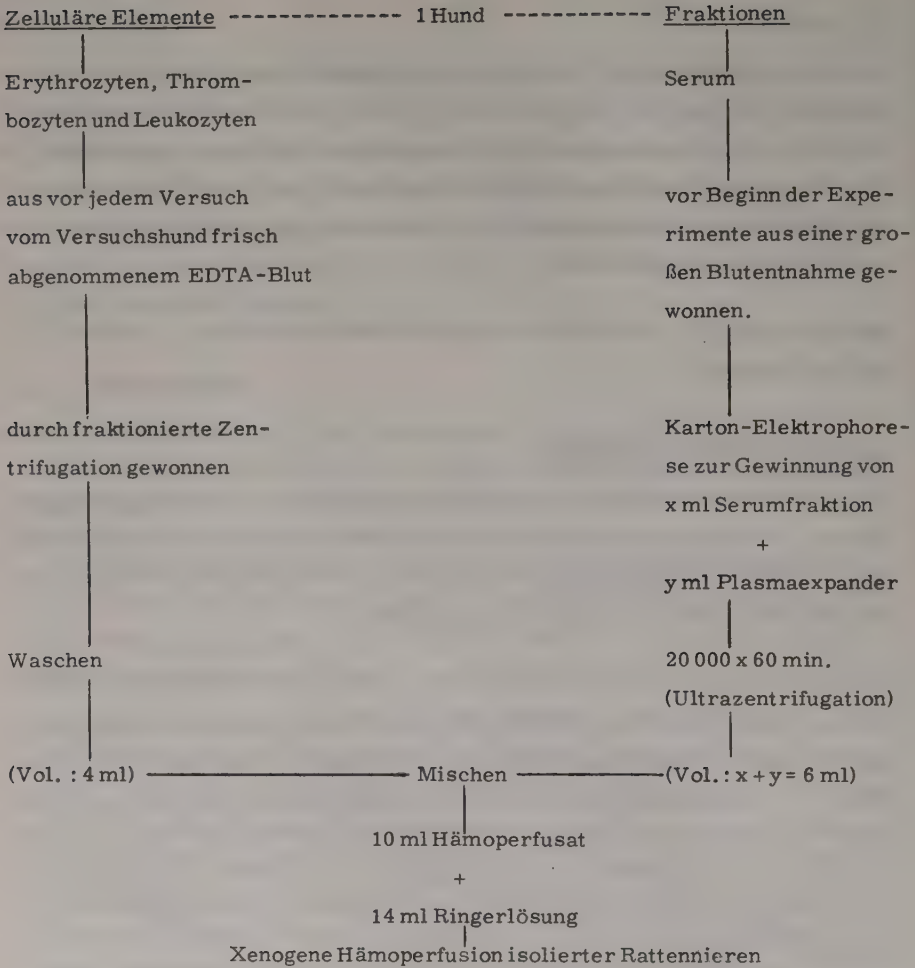


Abb. 2 Schema zur Vorbereitung verschiedener xenogener Hämoperfusate aus Hundeblut

c) Erythrozyten: Aus dem Rückstand von b) wurden nach 2maligem Waschen in physiologischer NaCl 4 ml Erythrozyten entnommen und wie oben geprüft.

Die Zellen wurden vermischt mit 6 ml Gelifundol⁺ oder 6 ml durch präparative Elektrophorese gewonnene Eiweiß-Fraktion (s. u.) zusammengeschüttet und gezählt. Der Durchschnittswert der Zellen im undiluierten Hämoperfusat (s. Abb. 2) lag bei $3,2 \times 10^6/\text{cm}^3$ Erythrozyten, $7000/\text{cm}^3$ Leukozyten und $150\,000/\text{cm}^3$ Thrombozyten.

2. Herstellung der Fraktionen

In einer Nembutal⁺⁺-Kurznarkose wurden den fünf Hunden (s. 3.) durch Punktion der A. femoralis jeweils 500 ml Blut entnommen. Erst nachdem sich die Hunde von dieser einmaligen großen Blutung genügend erholt hatten, wurden sie als Zellspender (s. VI, 1.) in den Versuchen verwendet. Zentrifugieren der 500 ml Blut ergab ca. 300 ml Serum. Aus dem Serum wurden, für jeden Hund getrennt, durch Kartonelektrophorese nach KNEDEL und SPERL (43) die Serum-Fraktionen isoliert. Als Trennungsparameter pro Lauf (6 Kartons 30 x 8 cm) wurden gewählt:

Spannung 250 V

Stromstärke 50 mA

Laufzeit ca. 15 Std.

Pufferverdünnung: Stammpuffer 1 : 2 verdünnt
(Stammpuffer: Veronal-Natrium 29,43 g, Natriumacetat 19,43 g (($3 \times \text{H}_2\text{O}$)), 180 ml n/10 x HCL, Aqua bidest. ad 3000 ml)

Kartonart: Nr. 2965 Fa. Schleicher & Schüll

Nach durchgeführter Trennung wurden die Eiweißzonen mittels des von R. CONSDEN, GORDEN und MARTIN (21) benützten Abklatschverfahrens und anschließend die Färbung lokalisiert. Für jeden Kartonstreifen wurde dann die Zerlegung - sie erfolgte an den hellsten Farbstellen zwischen den Fraktionen - genau nach dem zugehörigen Abklatsch durchgeführt. Auspressen der Kartonstreifen in einer hydrau-

+ Gelifundol^(R), Diotest-Serum-Institut GmbH, Frankfurt (Main)
++ Nembutal^(R), Deutsche Abbott GmbH, Ingelheim (Rhein)

lischen Presse mit einem Druck von 20 t ermöglichte eine weitgehende Wiedergewinnung der Eiweißmengen. Die ausgepresste Eiweißlösung wurde schließlich durch Vakuumdialyse⁺ konzentriert und danach zum Sterilisieren durch einen Milliporefilter⁺⁺ gepreßt. Trennungsvorgang und Sterilisation ergaben einen Eiweißverlust von ca. 30 %. Aus diesem Grund wurden zur Trennung statt 6 ml (s. Abb. 2) 9 ml Serum auf den Karton aufgetragen. Die Reinheit der einzelnen Fraktionen wurde mittels Immunelektrophorese nach A. FATEH-MOGHADAM und R. LAMERZ (28) mit polyvalentem Antihundeserum⁺⁺⁺ von Kaninchen untersucht. Die Hauptpräzitationslinien wurden im Vergleich zum Humanserum identifiziert.

+ Filtrationsgerät Typ SM, Fa. Satorius-Membranfilter

++ Millipore Filter 100 GSW P/02500, Millipore Corporation, Bedford, Massachusetts

+++ Antihundeserum der Fa. Hyland-Travenol, München

VII. Serologische Untersuchungen

Die serologischen Methoden wurden in Anlehnung an die Standardverfahren durchgeführt. Sie sind im folgenden kurz erläutert.

1. Nachweis agglutinierender Antikörper im Hundeserum gegen Rattenzellen (Hämagglutinationstest, Leukagglutinationstest (12; 45))

Gewinnung von Testzellen: Als Antigen wurden Rattenerythrozyten bzw. Rattenleukozyten verwendet, welche aus EDTA-Blut (1 Volumenteil 5%ige EDTA + 9 Volumenteile Frischblut) gewonnen wurden. Zur Herstellung einer Erythrozytensuspension wurde EDTA-Blut 2mal gewaschen und 0,2 ml des Sediments mit 50 ml gepufferter phys. NaCl-Lösung auf eine Konzentration von $50\,000\text{ Ery/mm}^3$ verdünnt.

Zur Herstellung einer Leukozytensuspension wurden 10 ml EDTA-Blut mit 2,5 ml 3%iger Dextranlösung MG = 250 000 40 min. lang bei 37°C schräggestellt (45° Winkel). Nach Sedimentation der Erythrozyten wurde der leukozytenreiche Dextran-Plasmaüberstand gewonnen.

Serum: in allen Tests wurde inaktiviertes Hundeserum bzw. inaktivierte, mit Gelifundol auf 6 ml aufgefüllte Eiweißfraktion ($30\text{ min}/56^\circ\text{C}$) verwandt. Serum und Fraktionen sind bei -20°C aufbewahrt worden.

Vorgehen: In Röhrchenreihen wurden 0,1 ml NaCl 0,9%ig mit 0,1 ml Serum in einer geometrisch progredienten Verdünnungsreihe angesetzt und in jedes Röhrchen 0,1 ml Zellsuspension zugefügt. Nach Schütteln wurde erst 90 min. bei 37°C und 30 min. bei 4°C inkubiert. Darauf wurden die Zellsuspensionen auf einen Objektträger getropft und mikroskopisch bei schwacher Vergrößerung auf Agglutinate hin abgelesen.

2. Passive Hämagglutination zum Nachweis von Antikörper gegen Rattenserum im Hundeserum (38)

Hundeerythrozyten wurden nach 3maligem Waschen in phys. NaCl nach der Boyden-Methode (8) tanniert: 10 ml 0,85%ige NaCl-Lösung, 5 ml Phosphatpuffer (pH 7,4), 5 ml Tanninsäurelösung (1 mg Tanninsäure pro 40 ml 0,85%iger NaCl Lösung) und

0,25 ml gewaschenes Erythrozytensediment. Nach 10 min. Inkubationszeit im Wasserbad bei 37 °C erfolgte Zentrifugation (5 min. 1000 U/min), einmalige Waschung in Phosphatpuffer und Sensibilisierung. Die Lösung zur Sensibilisierung bestand aus 5 mg Rattenserum (Proteinkonzentration 5,6 g-%, durch Ammoniumsulfatfüllung isoliert in den Behringwerken), 1 ml n/100 HCl und 2 ml Phosphatpuffer. 2,4 ml dieser Lösung, 1,2 ml phys. NaCl-Lösung und 0,05 ml tannierte Erythrozytensediment wurden 10 min. bei Zimmertemperatur inkubiert und danach abzentrifugiert. Das Sediment wurde in 3,5 ml einer einprozentigen inaktivierten Kaninchenserumlösung gewaschen und in 2,5 ml der gleichen Lösung resuspendiert.

Serum: In allen Tests wurden inaktiviertes Hundeserum bzw. inaktivierte, auf 6 ml mit Gelifundol aufgefüllte Eiweißfraktion (39 min/56 °C), die bei -20 °C gelagert worden waren, verwendet. Jedem Röhrchen einer Verdünnungsreihe wurden 0,25 ml Erythrozytensuspension zugegeben. Der Festansatz wurde bei Zimmertemperatur aufbewahrt und nach 18 Std. mikroskopisch abgelesen. Als Kontrolle dienten Erythrozyten, die nur tanniert worden waren.

3. Nachweis Komplement bindender Antikörper gegen Rattenorgangewebe im Hundeserum (KBR Makrotest) (46)

Frische, blutleere Rattennieren, -lebern, -herzen wurden mit der Schere zerkleinert und die Gewebstückchen durch ein Drahtsieb getrieben. 1 ml des Gewebebreies wurde in 10 ml Liebermeierpuffer (pH 7,2 - 7,4) homogenisiert und das Homogenat 20 min. bei 5000 g zentrifugiert. Der Überstand wurde mit Liebermeierpuffer verdünnt. Endproteinkonzentration der Organhomogenatsuspension: 500 mg%.

Vorgang: 1. Semiquantitative Komplementtitration:

Zur Abschätzung der Komplementaktivität im Gewebesystem wurde eine Verdünnungsreihe eines Tropfens des zu untersuchenden Meerschweinchenserums⁺ (1:10, 1:20 - 1:50) in Liebermeierpuffer angesetzt. Zu jeder Verdünnung erfolgt die Zugabe von 0,6 ml sensibilisierter Hammelerthrozyten⁺⁺. Nach 40 min. Inkubation bei 37 °C wurde die aufgetretene Lyse qualitativ geprüft. Jede größte Ver-

+ Meerschweinchenkomplement der Fa. Hyland Travenol München

++ Ich danke Reg. vet. dir. Dr. G. Beck, Oberreg. -vet. rat Dr. E. Schmittiel Dr. Stritzinger für die freundliche Überlassung der Hammelerthrozyten

dünnung, die noch eine Hämolyse verursachte, wurde als minimale hämolysierende Dosis (WHD) standardisiert.

2. Semiquantitative Antigentitration:

Zur Abschätzung günstiger Antigenkonzentrationen im gewählten System wurde eine Verdünnungsreihe eines Tropfens der zu untersuchenden Organhomogenatsuspension (1:10, 1:20 - 1:50) in Liebermeierpuffer (jeweils 1 Tropfen) angesetzt. Zu jeder Verdünnung erfolgte Zugabe von 1 Tropfen titriertem Meerschweinchenkomplement, sowie 0,6 ml sensibilisierter Hammelerythrozyten. Nach 40minütiger Inkubation bei 37 °C wurde die aufgetretene Lyse qualitativ festgestellt.

3. Sensibilisierung der Hammelerythrozyten:

Hammelerythrozyten aus frischem Citratblut wurden 3mal in phys. NaCl gewaschen und in Liebermeierpuffer suspendiert (2 ml Sediment in 35 ml Puffer). Nach Hinzufügen von 10 ml Aquadest zu 0,5 ml dieser Suspension erfolgte photometrische Messung⁺ der Lösung bei 546 m. Die Konzentration der Zellsuspension wurde so eingestellt, daß Extinktionswerte zwischen 0,56 und 0,58 erhalten wurden. Zu 20 ml Zellsuspension erfolgte Zugabe von 5 ml Amboceptor (Hämolysingemisch⁺⁺) und 15 ml Liebermeierpuffer. Danach 40 min. Inkubation bei 37 °C. Die Aufbewahrung erfolgte bei +4 °C im Kühlschrank. Vor Gebrauch wurde das Gemisch auf 240 ml mit Liebermeierpuffer verdünnt.

4. Hauptreaktion:

Im Röhrchentest wurden in allen Röhrchen der Reihe mit einer geeichten Tropfpipette ein Tropfen Serum bzw. Serumfraktionen einer mit Liebermeierpuffer geometrisch fallend angesetzten Verdünnungsreihe, ein Tropfen austitrierte Organhomogenatsuspension, ein Tropfen austitriertes Meerschweinchenkomplement angesetzt. Nach 90 min. Inkubationszeit bei 37 °C wurden 0,6 ml der sensibilisierten Hammelerythrozyten hinzugefügt. Nach Mischen und 30 min. Inkubation bei 37 °C erfolgte Ablesung. Hämolyse: keine Komplementbildung; Nichthämolyse: Komplementbildung. Dabei gab das letzte Röhrchen vor der vollständigen Hämolyse den Titer.

+ Photometer Eppendorf

++ Fa. Hyland Travenol München

5. Kontrollen:

Organhomogenat ohne Serum und Serum ohne Organhomogenat.

4. Bestimmung des C'H₅₀ Titers (42)

Die 50 % Hämolysen-Einheit des Komplements, die mit C'H₅₀ bezeichnet wird, ist als diejenige Komplementmenge definiert, die für eine 50 %ige Lyse erforderlich ist. Die C'H₅₀ Einheit ist von der Erythrozytenkonzentration, dem Zustand der Zellen, der für die Sensibilisierung benutzten Ambozeptormenge, der Ionenstärke des Systems, der Konzentration von Ca und Mg dem pH, der Reaktionszeit und von der Reaktionstemperatur abhängig. Diese Faktoren müssen sorgfältig durch Kontrollen berücksichtigt werden.

Zur mathematischen Beschreibung wird folgende Formel angewendet:

$$x = K \left(\frac{y}{1-y} \right)^{1/n} \quad (1)$$

Dabei bedeutet x = im Serum vorhandene Komplementmenge in C'H₅₀ Einheiten
y = Hämolysengrad (100 · y = Hämolysen in Prozent)

K = 50 % Einheit des Komplements

1/n = von den Versuchsbedingungen (Temperatur, Reaktionszeit usw.) abhängige Größe

Bei der hämolytischen Prüfung der Komplementaktivität wird die Komplementmenge so gewählt, daß die Titration 4 Punkte, vorzugsweise zwischen 20 % und 80 % Lyse liefert. Durch Logarithmieren der Formel (1) wird

$$\log x = \log K + \frac{1}{n} \log \left(\frac{y}{1-y} \right) \quad (2)$$

erhalten. Auftragen der beiden Punkte entsprechend Formel (2) ergibt K. K ist die für die 50 % Lyse benötigte Komplementmenge und damit C'H₅₀.

5. Komplementlokalisation nach Ouchterlony mit einem spezifischen Antiserum von Kaninchen gegen C'β_{1a-1c} vom Hund (73)

Herstellung des Agar: 1,5 g Reniagar Difco auf 100 ml Puffer (0,1 mol Na₂PO₄ pH 7,1);

Quellen des Agars in Puffer. Danach wird der Agar 30 min. im Dampftopf gekocht. Gießen der Platten: Der im kochenden Wasserbad erhitzte Agar muß völlig schlierenfrei geworden sein. Mit einer Pipette werden 2, 2 - 2, 5 ml des heißen Agars gleichmäßig auf den Objektträger aufgegossen. Zum Erstarren werden die Platten für mindestens 15 min. in eine feuchte Kammer gelegt. Nachdem sich der Agar verfestigt hat, können die Antigen- und die Antiserumreservoirs ausgestanzt werden. Das Einfüllen der Sera erfolgt mit einer sehr dünn ausgezogenen Glaskanüle. Nach Zugabe des Antiserums kommen die Platten wieder für mindestens 12 Stunden in die feuchte Kammer. Danach können die Präzipitationslinien abgelesen werden.

VIII. Histologische Untersuchungen

Zur histologischen Auswertung wurden die perfundierten Organe fixiert: ein Viertel eines Organs wurde in mit Trockeneis versetztes Aceton, ein Viertel in Susa und die Hälfte in Acrylat-Fixiermittel (960 cm³ Methanol, 500 cm³ Formol, 40 cm³ Phosphatpuffer (pH = 7, 4) fixiert.

Einbettung in Paraffin und Methacrylat.

Färbungen: HE, van Gieson, PAS, Ladewig-Fibrinfärbung (Paraffin-Schnitt). Giemsa, Gomori-Versilberung (Methacrylat-Schnitte).

Die Auswertung erfolgte nach einem von K. PIELSTICKER angegebenen Schema (17, 18). Danach werden drei Grade der Abstoßung unterschieden:

0) keine Abstoßungszeichen;

1) Pyknose von Endothel-Zellkernen; dabei häufig auch Pyknose von Mesangium-Zellkernen und Karyohexis;

2) Nekrose von Endothel- und Mesangium-Zellen in Glomerula. Nekrose von Endothelzellen in Arteriolen und intertubulären Kapillaren, z. T. auch in kleinen Arterien. Nekrotische Zellen z. T. bereits abgeräumt. Intravasale Thrombozyten- und Fibrinpräzipitate.

IX. Messungen

1. Zeitmessungen:

Anoxie = Zeit vom Abklemmen der Aorta bis zum Eintritt der Ringerlösung in das

Organ.

Ischämie = Anoxie + Dauer der Vorperfusion = Zeit vom Abklemmen der Aorta bis zum Bluteintritt in der Hauptperfusion.

Laufzeit = Dauer der Hauptperfusion

Fixationszeit = Dauer vom Perfusionsende bis zum Fixieren des Organs.

2. Während der Perfusion fortlaufende Registrierung des Perfusionsdruckes, der über ein Statham-Element gemessen wurde, der Pumpendrehzahl und der Perfusionszeit in min. auf einem Direktschreiber⁺.

3. Bestimmung des Feuchtgewichts der Niere nach dem Perfusionsende (vgl. Feuchtgewicht der kontralateralen Niere) mit der Feinwaage⁺⁺.

4. Bestimmung des pH im Perfusat nach der Astrup-Methode am Ende der Perfusion.

5. Messung der Osmolarität im Perfusat und Urin kryoskopisch⁺⁺⁺.

6. Messung der pro 15 min. ausgeschiedenen Urinmenge.

7. Zählung der Zellen (Leukozyten, Thrombozyten, Erythrozyten) im nicht mit Ringerlösung diluierten Perfusat.

X. Berechnungen

Die Nierendurchblutung pro Gramm und Minute errechnet sich mit n = Umdrehungszahl der Pumpe und bei einem Schlagvolumen von 0,07 ml pro Umdrehung aus der Formel:

$$v_B = \frac{n \times 0,07}{G_{\text{re. Ni.}}}$$

Dabei ist $G_{\text{re. Ni.}}$ das Feuchtgewicht der rechten nicht perfundierten Niere. Nach v. LIEBE (54) entspricht es dem Feuchtgewicht der linken Niere desselben Tieres

+ Direktschreiber Hellige MR 76, American Optic Comp.
++ Feine Federwaage, Original Rebüre (Höchstbelastung 5 kg)
+++ Mikroosmometer Dr. -Ing. H. Knauer, Berlin

vor Beginn der Vorperfusion. Um die Anoxiezeit abkürzen zu können, wurde die rechte Niere anstelle der linken gewogen.

XI. Versuchsprogramm

1. Kontrollen

Perfusion mit Rattenvollblut, (n = 3) Hundevollblut (n = 5; Hund 1 - 5) und Gelifundol in Kombination mit Hundeeerythrozyten (n = 3; Hund 1 - 3)

2. Serumfraktionen in Kombination mit Hunde-Zellen (= Erythrozyten, Leukozyten, Thrombozyten) (n = 5; Hund 1 - 5)

Perfusion mit Albumin-, α_1 -Globulin-, α_2 -Globulin-, β -Globulin- und γ -Globulinfraktion mit Zellen.

3. Serumfraktionen in Kombination mit Hunde-Erythrozyten (n = 3; Hund 1, 3, 4)

Perfusion mit Albumin-, α_1 -Globulin-, α_2 -Globulin-, β -Globulin- und γ -Globulinfraktion mit Erythrozyten.

C. ERGEBNISSE

I. Charakterisierung der durch die Kartonelektrophorese erhaltenen Fraktionen im Vergleich mit Vollserum

1. Immunelektrophoretische Analyse⁺

Die Auswertung der durch die Immunelektrophorese mit einem polyvalenten Antihundeserum erhaltenen Präzipitationslinien (Abb. 3) erfolgte analog den entsprechenden Präzipitationslinien des Humanserums. Im wesentlichen wurde die für das Humanserum geläufige Nomenklatur beibehalten.

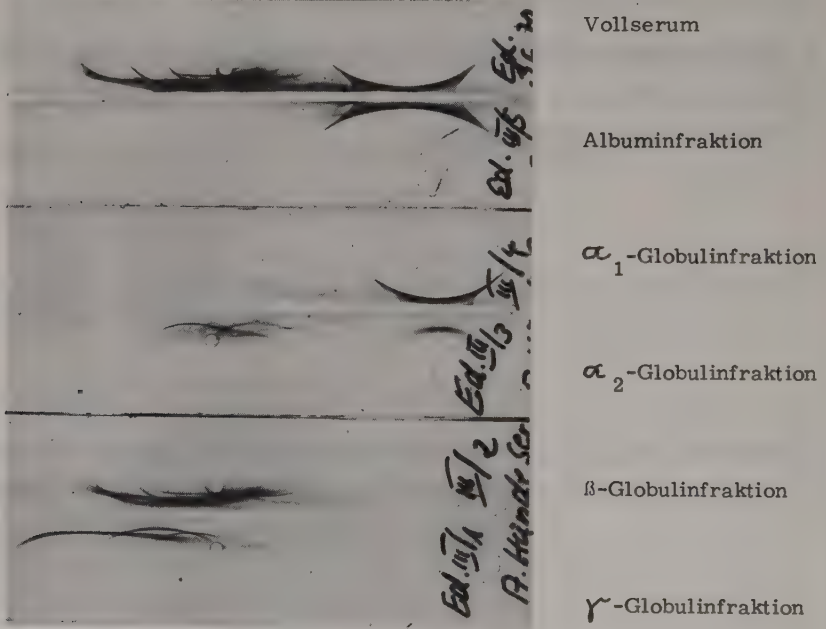


Abb. 3 Immunelektrophorese des Vollserums und der Serumfraktionen vom Hund mit einem polyvalentem Antihundeserum vom Kaninchen.

+ Für die Überlassung der Serumfraktionen und der Ergebnisse der Immunelektrophorese bin ich Herrn Dr. R. Lamerz von der I. Med. Klinik der Univ. München sehr zu Dank verpflichtet.

Daraus ergibt sich eine Aufteilung in folgende Fraktionen:

- a) Albuminfraktion: Albumin mit einer geringen Menge α_1 -Globulin
- b) α_1 -Globulinfraktion: α_1 -Globulin, α_2 -Globulin (Haptoglobulin), viel Albumin
- c) α_2 -Globulinfraktion: α_2 -Globulin (Hapto-, Makroglobulin), β -Globulin, wenig Albumin
- d) β -Globulinfraktion: β -Globulin, α_2 -Globulin (Hapto-, Makroglobulin), γ -Globulin (Ig₃M, verschiedene IgA), Komplement
- e) γ -Globulinfraktion: γ -Globulin (Ig₁G, Ig₂A), β -Globulin

2. Komplementlokalisation nach Ouchterlony

Die Immundiffusion ergab Präzipitationslinien im Bereich der α_2 -Globulinfraktion, der β -Globulinfraktion und der γ -Globulinfraktion mit einer deutlichsten Ausprägung im β -Globulinbereich.

3. Bestimmung des C'H₅₀ Titers

Im Serum der fünf Hunde ließ sich eine Komplementaktivität von 40 - 50 Hämolyseinheiten nachweisen. Obwohl mit der Komplementlokalisation nach OUCHTERLONY in der α_2 -, β - und γ -Globulinfraktion Komplement gefunden wurde, zeigte sich mit der C'H₅₀-Methode in diesen Fraktionen keine Komplementaktivität.

4. Serologische Aktivität

In Tabelle 1 sind die Ergebnisse der Prüfung auf präformierte Antikörper (agglutinierende Antikörper = periphere Blutzellen; komplementbindende Antikörper gegen Leber, Herz, Nierenhomogenat, sowie pass. hämaggl. Antikörper gegen Rattenserum) im Serum und den Serumfraktionen aller fünf untersuchten Tiere zusammengestellt. Es konnten nur in den β - und γ -Globulinfraktionen Titer gemessen werden, die mit den im Serum gefundenen Titern vergleichbar sind. In den übrigen Fraktionen wurde kein Titer gefunden, bzw. bei der α_2 -Globulinfraktion, Hund 3, nur ein Hämagglutinationstiter von 1:1. Die maximalen Werte betrugen im

Serum: Hämagglutinationstiter 1:256, Leukoagglutinationstiter 1:2,
passive Hämagglutination $\emptyset$, KBR-Niere 1:64, -Leber 1:4, -Herz 1:4.

Tabelle 1

Titerwerte präformierter Antikörper im Hundeserum gegen Ratten-Zellen-, Gewebe-Serum (agglutinierende AK gegen periphere Blutzellen; komplementbindende AK gegen Leber-, Herz- und Nieren-homogenat; pass. hämaggl. AK gegen Rattenserum).

(In Spalte 2 sind die Versuchshunde jeweils mit 1 - 5 angegeben.)

	Hund	Hämaggl.	Leukaggl.	pass. Hämaggl.	K- Niere	B- Leber	R Herz
Serum	1	1:256	1:2	Ø	1:64	1:2	1:2
	2	1:256	Ø	Ø	1:32	Ø	1:2
	3	1:256	Ø	Ø	1:8	1:2	Ø
	4	1:256	Ø	Ø	1:64	1:4	1:2
	5	1:128	Ø	Ø	1:16	1:2	1:4
Albumin- Fr.	1	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
	2	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
	3	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
	4	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
	5	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
α_1 -Glob.- Fr.	1	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
	2	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
	3	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
	4	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
	5	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
α_2 -Glob.- Fr.	1	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
	2	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
	3	1:1	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
	4	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
	5	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
β -Glob.- Fr.	1	1:128	Ø	Ø	1:16	1:8	1:2
	2	1:64	Ø	1:2	1:16	1:8	1:2
	3	1:128	Ø	Ø	1:32	1:8	Ø
	4	1:32	Ø	1:4	1:8	Ø	Ø
	5	1:32	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
γ -Glob.- Fr.	1	1:32	Ø	Ø	1:4	1:8	1:4
	2	1:8	Ø	Ø	1:4	Ø	1:4
	3	1:32	Ø	Ø	1:8	1:4	1:2
	4	1:8	Ø	1:2	1:64	1:4	1:2
	5	1:16	Ø	Ø	1:8	1:8	1:8

β -Globulinfr.: Hämagglutinationstiter 1:128, Leukoagglutinationstiter $\emptyset$, passive Hämagglutination 1:4, KBR-Niere 1:32, -Leber 1:8, -Herz 1:2;

γ -Globulinfr.: Hämagglutinationstiter 1:32, Leukoagglutinationstiter $\emptyset$, passive Hämagglutination 1:2, KBR-Niere 1:64, -Leber 1:8, -Herz 1:8.

Zusammenfassend: Die immunoelektrophoretische Analyse zeigte eine leichte Verunreinigung der Fraktionen durch Nachbarfraktionen, sodaß sie eher als "so-genannte" Fraktionen bezeichnet werden sollten. In den β - und γ -Globulinfraktionen zeigten sich mit dem Nativserum vergleichbare Titerwerte präformierter Antikörper. Komplementaktivität konnte in keiner der Fraktionen gefunden werden.

II. Xenohämoperfusion

Für dieses und die nachfolgenden Kapitel werden folgende Abkürzungen eingeführt:

RV: Ratten-Vollblut

HV: Hunde-Vollblut

GHE: Gelifundol + Hunde-Erythrozyten

AlZ: Albuminfraktion + Zellen (Zellen = Erythro- + Leuko- + Thrombozyten)

α_1 Z: α_1 -Globulinfraktion + Zellen

α_2 Z: α_2 -Globulinfraktion + Zellen

β Z: β -Globulinfraktion + Zellen

γ Z: γ -Globulinfraktion + Zellen

AlE: Albuminfraktion + Erythrozyten

α_1 E: α_1 -Globulinfraktion + Erythrozyten

α_2 E: α_2 -Globulinfraktion + Erythrozyten

β E: β -Globulinfraktion + Erythrozyten

γ E: γ -Globulinfraktion + Erythrozyten

1. Versuchsbedingungen

Darunter wurden die Meßgrößen zusammengefaßt, die vom Versuchsleiter beeinflußt werden können, nämlich Anoxie- bzw. Ischämiezeit, Hämatokrit und pH (siehe Tabelle 2). Um Vergleichbarkeit der Einzelversuche zu gewährleisten wurde

Tabelle 2 Zusammenstellung der Meßergebnisse der für die Versuchsbedingung verantwortlichen Größen bei Hämoperfusion von Rattennieren:
Anoxie, Ischämie, Hämatokrit und pH.

Perfusion mit:	T_a	T_i	HK_o	HK_e	pH_e
RV	3,3	12,0	22,3	22,0	7,3
	$\pm 0,3$	$\pm 0,5$	$\pm 1,9$	$\pm 1,2$	$\pm 0,1$
HV	4,8	15,8	24,2	24,4	7,3
	$\pm 0,7$	$\pm 1,5$	$\pm 1,6$	$\pm 0,5$	$\pm 0,1$
GHE	5,0	15,7	25,3	25,7	7,4
	-	$\pm 1,7$	$\pm 2,3$	$\pm 2,6$	-
ALZ	5,2	18,0	20,6	21,4	7,3
	$\pm 0,5$	$\pm 1,4$	$\pm 0,5$	$\pm 1,2$	$\pm 0,1$
$\alpha_1 Z$	6,6	21,2	20,6	20,4	7,3
	$\pm 0,8$	$\pm 1,1$	$\pm 0,4$	$\pm 0,2$	-
$\alpha_2 Z$	5,0	19,6	20,8	21,4	7,3
	$\pm 0,6$	$\pm 2,3$	$\pm 0,6$	$\pm 0,4$	$\pm 0,1$
βZ	6,0	22,6	20,8	20,8	7,3
	$\pm 0,6$	$\pm 1,9$	$\pm 0,4$	$\pm 0,4$	$\pm$
γZ	4,8	18,4	20,8	21,4	7,4
	$\pm 0,2$	$\pm 1,5$	$\pm 0,2$	$\pm 0,6$	-
AlE	7,7	24,7	21,7	20,3	7,3
	$\pm 2,7$	$\pm 2,6$	$\pm 0,3$	$\pm 0,3$	-
$\alpha_1 E$	5,7	16,7	21,3	20,0	7,3
	$\pm 1,2$	$\pm 4,4$	$\pm 0,9$	$\pm 0,6$	-
$\alpha_2 E$	7,0	20,0	21,0	21,7	7,4
	-	$\pm 1,5$	-	$\pm 1,3$	-
βE	7,3	24,7	20,7	20,3	7,3
	$\pm 1,9$	$\pm 2,7$	$\pm 0,9$	$\pm 0,3$	$\pm 0,1$
γE	6,7	20,3	20,3	20,3	7,4
	$\pm 2,2$	$\pm 1,3$	$\pm 0,3$	$\pm 0,3$	$\pm$

RV (n = 3), HV (n = 5), GHE (n = 3), ALZ (n = 5), $\alpha_1 Z$ (n = 5), $\alpha_2 Z$ (n = 5), βZ (n = 5), γZ (n = 5), AlE (n = 3), $\alpha_1 E$ (n = 3), $\alpha_2 E$ (n = 3), βE (n = 3), γE (n = 3).
 Zeichenerklärung und Einheiten: T_a = Anoxiezeit (min), T_i = Ischämiezeit (min), HK_o = Hämatokrit am Perfusionsanfang (in %), HK_e = Hämatokrit am Perfusionsende (in %), pH_e = pH am Perfusionsende.
 (Abkürzungen siehe S. 1)

eine möglichst geringe Schwankungsbreite dieser Werte angestrebt.

Anoxie- und Ischämiezeit: Schonende Operationstechnik vorausgesetzt, ist die Anoxie- bzw. Ischämiezeit ein Maß für die Schädigung des Organs vor Beginn der Xenohämoperfusion und damit für die Ausgangsbedingungen der Versuche. Mit $3,3 \pm 0,3$ - $7,7 \pm 2,7$ min. und $12,0 \pm 0,5$ - $24,7 \pm 2,7$ min. wurden kurze Anoxie- bzw. Ischämiezeiten erreicht (angegeben sind jeweils der niedrigste und der höchste Mittelwert des ganzen Versuchsprogramms).

Hämotokrit: Der durch Dilution der 10 ml Ringerlösung eingestellte Hämotokrit konnte durch fortlaufende Substitution der produzierten Urinmenge mit Ringerlösung zwischen $25,7 \pm 2,6$ und $20,0 \pm 0,6$ % gehalten werden.

pH: Das Perfusat wurde zu Perfusionsbeginn auf Werte zwischen 7,38 und 7,44 eingestellt. pH-Messungen am Perfusionsende zeigten meistens einen Abfall des pH im Perfusat auf $7,3 \pm 0,1$.

2. Das Verhalten der Nieren bei Perfusion mit den verschiedenen Perfusaten

a) Laufzeit: Nach der vorliegenden Definition ist die Abstoßung vollständig, wenn bei konstant gehaltenem Perfusionsdruck der Regelbereich der Perfusionspumpe unterschritten wird, d. h. wenn das Perfusionsvolumen unter 0,28 ml/min geregt werden muß.

Als maximale Versuchszeit wurden 120 min. festgelegt. Wurde während der 120 min. der Regelbereich der Pumpe nicht unterschritten, wurde der Versuch abgebrochen. Bei Perfusion mit HV wurde von je einer Niere nach 20, 25 und 55 minütiger und von zwei Nieren nach 60minütiger Perfusionszeit der Regelbereich der Perfusionspumpe unterschritten. In den übrigen Versuchen wurden nach unserer Definition lediglich bei Perfusion mit β Z zwei von fünf Nieren in der vorgegebenen Zeit von 120 min. (nach 75 bzw. 110 min.) vollständig abgestoßen.

b) Dauer der funktionellen Perfusion (T_f) (Tabelle 5, Abb. 4): Durch die Angabe der Dauer der funktionellen Perfusion kann die Charakteristik der Abstoßungsreaktion gezeigt werden.

Unter funktioneller Perfusion wird eine Perfusion verstanden, bei der die nutritive Sauerstoffversorgung gewährleistet ist. Anhand der O_2 -Verbrauchskurve

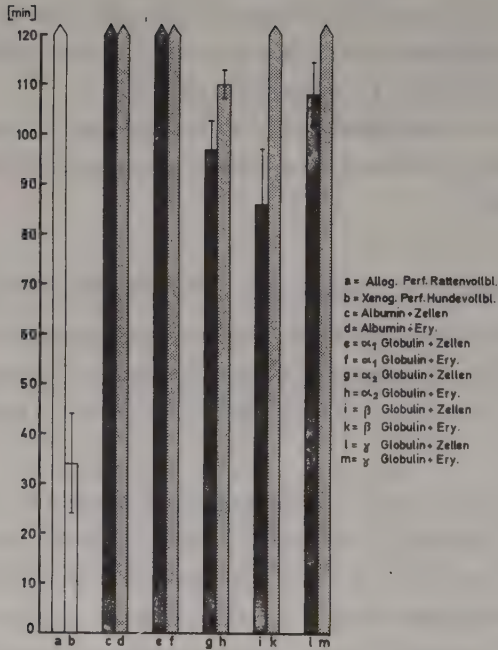


Abb. 4 Funktionelle Perfusion
Rattenvollblut (n = 3), Hundevollblut (n = 5),
Fraktionen mit Zellen (n = 5), Fraktionen mit
Erythrozyten (n = 3)

wurde das minimale Perfusionsvolumen, bei dem gerade noch die nutritive O_2 -Versorgung des Organs gewährleistet ist, mit 1 ml/gxmin. festgelegt (87).

Bei xenogener Perfusion mit HV wurde diese Grenze schon nach 34minütiger Perfusionszeit erreicht. Im Vergleich zu der HV-Versuchsgruppe wird bei Perfusion mit α_2Z (nach 106 min.), mit α_2E (nach 110 min.) mit βZ (nach 86 min.) und mit γZ (nach 106 min.) die Grenze wesentlich verzögert unterschritten.

c) Das Verhalten des Perfusionsdrucks (P) und des Perfusionsvolumens (v_B):

Die Werte sind in Tabelle 3 zusammengestellt.

Der Perfusionsdruck schwankt bei allen Versuchen im Bereich von 100 bis 120 mmHg.

α) Kontrollen (Abb. 5)

Perfusion mit RV: Innerhalb der ersten 5 min. der Hauptperfusion sinkt das Perfusionsvolumen von 3,8 auf 2,7 ml/g·min. ab; innerhalb der folgenden 35 min. erreicht es wieder einen Wert von 4,5 ml/g·min. . Von der 40. min. an sinkt das Perfusionsvolumen langsam auf einen Endwert von 2,8 ml/g·min in der 120. min. ab.

Perfusion mit HV: Es wird ein Ausgangsperfusionsvolumen von 3,3 ml/g·min erreicht. Bereits in den ersten 5 min der Hauptperfusion sinkt das Perfusionsvolumen auf 2,0 ml/g·min ab. Ab der 30. min wird mit einem gegenüber dem Perfusionsvolumen der allogenen Versuche signifikant niedrigeren Perfusionsvolumen perfundiert.

Perfusion mit GHE: Im Gegensatz zu den allogenen Versuchen mit RV steigt das Perfusionsvolumen bei Perfusion mit GHE steil von einem Anfangsperfusionsvolumen von 3,4 ml/g·min auf 6,7 ml/g·min in der 15. Hauptperfusionsminute an. Das Perfusionsvolumen ist von der 5. bis zur 15. min signifikant höher als das in den allogenen Versuchen im gleichen Zeitabschnitt ($p < 0,05$). Nach der 15. Perfusionsminute sinkt das Perfusionsvolumen wieder scharf ab. In der 35. min liegt bei Perfusion mit GHE das gleiche Perfusionsvolumen vor wie bei der Perfusion mit RV. Ab der 35. min ist der zeitliche Verlauf des Perfusionsvolumens bei Perfusion mit GHE ähnlich dem in den Versuchen mit RV: Das Perfusionsvolumen sinkt von der 35. min an langsam auf einen Endwert von 2,4 ml/g·min in der 120. min ab.

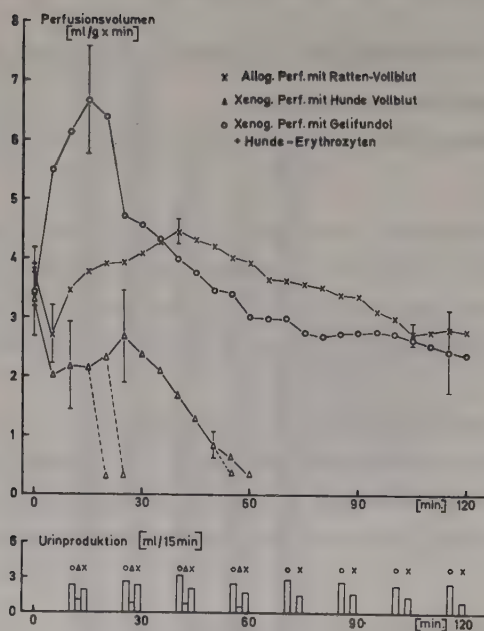


Abb. 5 Perfusionsvolumen und Urinproduktion bei hämoperfundierte Ratten-nieren. Perfusat (= Kontrollgruppe): Rattenvollblut (n = 3); Hundevollblut (n = 5); Gelifundol + Hunde-Erythrozyten (n = 3).

Tabelle 3

Zeitlicher Ablauf des Perfusionsdrucks und des Perfusionsvolumens bei Perfusion mit:

RV (n = 3), HV (n = 5), GHE (n = 3), ALZ (n = 5), $\downarrow$ Z (n = 5), $\downarrow$ Z (n = 5), δ Z (n = 5), δ Z (n = 5), ALE (n = 3), $\downarrow$ E (n = 3), $\downarrow$ E (n = 3), δ E (n = 3), γ E (n = 3). Zeichenerklärung und Einheiten: P = Perfusionsdruck (mmHg), $\dot{V}_B$ = Perfusionsvolumen (ml/g·min), Zeit (min).

Zeit (min)		0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
RV	P	100,0 ± —	104,7 ± 4,7	108,3 ± 4,7	110,0 ± —	110,0 ± —	106,7 ± 4,7	106,7 ± 4,6	106,7 ± 6,0	112,7 ± 3,9	107,0 ± 4,5	112,7 ± 6,3	107,7 ± 5,4	108,3 ± 4,7
	$\dot{V}_B$	3,8 ± 0,4	2,7 ± 0,5	3,6 ± 0,7	3,8 ± 0,4	3,9 ± 0,4	3,9 ± 0,3	4,1 ± 0,2	4,3 ± 0,1	4,5 ± 0,2	4,3 ± 0,3	4,2 ± 0,3	4,0 ± 0,3	3,9 ± 0,2
HV	P	103,8 ± 2,3	116,4 ± 4,2	116,2 ± 2,4	119,6 ± 4,0	119,3 ± 2,3	119,3 ± 2,3	117,0 ± 3,8	118,7 ± 0,9	117,7 ± 2,3	122,7 ± 4,5	117,0 ± 2,1	119,0 ± 2,1	118,5 ± 2,1
	$\dot{V}_B$	3,3 ± 0,6	2,0 ± 0,6	2,2 ± 0,8	2,1 ± 0,8	2,3 ± 0,8	2,7 ± 0,8	2,4 ± 0,7	2,1 ± 0,4	1,7 ± 0,4	1,3 ± 0,2	0,8 ± 0,2	0,6 ± 0,2	0,3 ± 0,2
GHE	P	112,0 ± 4,7	111,3 ± 4,9	110,7 ± 3,4	115,0 ± 4,5	114,7 ± 2,7	108,7 ± 2,3	109,0 ± 2,5	109,3 ± 2,4	109,00 ± 4,7	109,00 ± 4,7	110,0 ± 2,1	112,7 ± 4,9	110,3 ± 0,3
	$\dot{V}_B$	3,4 ± 0,2	5,5 ± 0,5	6,1 ± 0,2	6,7 ± 0,9	6,4 ± 0,8	4,7 ± 0,4	4,6 ± 0,4	4,3 ± 0,4	4,0 ± 1,2	3,8 ± 1,3	3,5 ± 1,4	3,4 ± 1,5	3,0 ± 1,3
HLZ	P	110,4 ± 4,3	113,4 ± 2,4	111,0 ± 2,5	113,2 ± 4,9	114,4 ± 4,0	112,2 ± 4,0	115,2 ± 4,3	114,8 ± 4,9	114,8 ± 4,9	114,0 ± 2,1	112,4 ± 4,9	112,0 ± 2,0	112,0 ± 2,0
	$\dot{V}_B$	3,7 ± 0,6	3,9 ± 0,6	4,9 ± 0,5	5,3 ± 0,7	4,2 ± 0,6	3,9 ± 0,6	3,9 ± 0,5	3,8 ± 0,5	3,7 ± 0,5	3,6 ± 0,5	3,5 ± 0,4	3,4 ± 0,5	3,3 ± 0,5
$\downarrow$ Z	P	111,0 ± 3,7	108,2 ± 2,2	109,0 ± 4,6	111,6 ± 1,2	110,8 ± 2,1	110,2 ± 1,3	113,0 ± 0,9	112,2 ± 1,4	112,4 ± 1,9	110,8 ± 1,6	111,4 ± 0,9	112,8 ± 1,1	110,6 ± 1,4
	$\dot{V}_B$	3,3 ± 0,6	5,3 ± 0,3	5,6 ± 0,5	5,7 ± 0,5	5,7 ± 0,4	5,6 ± 0,3	5,7 ± 0,3	5,6 ± 0,2	5,5 ± 0,2	5,2 ± 0,2	4,9 ± 0,1	4,7 ± 0,1	4,6 ± 0,1
$\downarrow$ E	P	109,2 ± 3,5	111,4 ± 2,7	109,2 ± 3,4	109,8 ± 4,0	108,8 ± 1,5	110,4 ± 1,3	114,00 ± 2,4	114,4 ± 4,7	115,6 ± 4,7	115,0 ± 4,3	116,0 ± 1,5	114,8 ± 1,6	113,6 ± 1,5
	$\dot{V}_B$	3,3 ± 0,6	5,3 ± 0,6	5,4 ± 0,7	5,3 ± 0,7	5,3 ± 0,8	5,3 ± 0,7	5,1 ± 0,7	4,8 ± 0,8	4,2 ± 0,8	3,7 ± 0,6	3,3 ± 0,4	3,0 ± 0,3	2,5 ± 0,2
BZ	P	110,00 ± 3,0	111,8 ± 2,9	112,0 ± 3,5	115,2 ± 2,3	113,0 ± 1,9	114,0 ± 1,8	114,8 ± 1,8	113,0 ± 1,8	114,2 ± 2,3	114,4 ± 2,2	114,8 ± 1,7	113,2 ± 1,5	113,4 ± 1,1
	$\dot{V}_B$	3,5 ± 0,7	5,5 ± 0,5	5,5 ± 0,5	5,1 ± 0,5	4,4 ± 0,2	4,0 ± 0,2	3,5 ± 0,2	3,1 ± 0,2	2,6 ± 0,3	2,5 ± 0,4	2,3 ± 0,4	1,9 ± 0,3	1,6 ± 0,3
δ Z	P	108,4 ± 2,8	104,2 ± 1,7	114,2 ± 2,5	108,2 ± 2,7	112,4 ± 1,4	111,4 ± 1,7	110,0 ± 1,7	108,8 ± 0,8	112,8 ± 0,9	114,0 ± 4,1	114,0 ± 4,3	112,4 ± 1,8	113,0 ± 1,0
	$\dot{V}_B$	3,2 ± 0,3	4,2 ± 0,4	5,4 ± 0,6	4,1 ± 0,4	4,1 ± 0,4	3,8 ± 0,3	3,8 ± 0,3	3,7 ± 0,2	3,7 ± 0,1	3,5 ± 0,1	3,5 ± 0,1	3,1 ± 0,2	2,8 ± 0,2
RLZ	P	110,00 ± 5,3	102,7 ± 1,8	106,7 ± 2,4	109,0 ± 4,5	111,0 ± 1,0	115,0 ± 0,6	116,7 ± 1,2	118,0 ± 4,5	115,0 ± 3,6	118,3 ± 4,1	117,7 ± 5,6	124,0 ± 4,5	116,3 ± 2,9
	$\dot{V}_B$	3,8 ± 0,5	4,0 ± 0,9	5,3 ± 0,9	6,3 ± 0,7	6,8 ± 0,4	7,2 ± 0,3	7,3 ± 0,2	7,3 ± 0,3	7,0 ± 0,6	7,2 ± 0,5	7,2 ± 0,5	7,4 ± 0,3	7,0 ± 0,6
$\downarrow$ E	P	106,00 ± 3,1	112,3 ± 3,3	108,0 ± 1,5	109,3 ± 0,7	109,3 ± 2,4	108,3 ± 1,2	110,0 ± 1,2	107,7 ± 1,2	114,3 ± 4,3	111,7 ± 4,3	112,5 ± 0,9	113,0 ± 2,3	112,7 ± 1,9
	$\dot{V}_B$	3,2 ± 0,3	3,6 ± 0,9	3,4 ± 0,6	4,1 ± 0,9	4,2 ± 1,0	4,2 ± 0,9	4,6 ± 0,9	4,8 ± 0,9	4,9 ± 1,0	4,8 ± 1,0	4,9 ± 1,1	4,8 ± 1,0	4,7 ± 1,0
δ E	P	106,0 ± 6,0	105,3 ± 4,8	107,7 ± 2,0	110,0 ± 2,5	112,3 ± 1,7	110,0 ± 0,6	111,7 ± 2,2	110,0 ± 2,3	111,3 ± 1,9	111,0 ± 2,1	113,5 ± 0,9	111,7 ± 0,9	110,7 ± 1,2
	$\dot{V}_B$	2,9 ± 0,7	3,7 ± 1,7	3,9 ± 1,6	4,2 ± 1,7	4,2 ± 1,7	4,1 ± 1,7	3,8 ± 1,3	3,5 ± 1,1	3,4 ± 0,8	3,3 ± 0,6	3,0 ± 0,5	2,6 ± 0,3	2,4 ± 0,2
BE	P	111,0 ± 2,7	100,0 ± 5,0	104,7 ± 0,3	107,7 ± 0,7	109,7 ± 0,3	111,3 ± 1,3	111,0 ± 2,1	112,3 ± 1,2	109,7 ± 1,8	110,0 ± 2,5	103,5 ± 1,8	110,7 ± 2,4	103,7 ± 1,9
	$\dot{V}_B$	3,2 ± 0,6	3,6 ± —	3,2 ± —	3,9 ± —	4,7 ± —	5,2 ± —	5,0 ± —	5,3 ± —	5,2 ± —	5,0 ± —	4,9 ± —	4,7 ± —	4,6 ± 0,2
γ E	P	109,7 ± 5,0	111,7 ± 3,3	112,7 ± 2,3	109,0 ± 0,6	105,7 ± 1,2	110,0 ± —	112,00 ± 1,2	108,3 ± 1,2	110,7 ± 2,2	109,0 ± 1,7	111,0 ± 0,6	113,3 ± 0,3	111,50 ± 0,6
	$\dot{V}_B$	3,1 ± 0,9	2,8 ± 1,1	3,0 ± 1,2	3,5 ± 1,3	3,4 ± 1,2	3,91 ± 1,4	4,3 ± 1,3	4,2 ± 1,3	4,7 ± 1,3	4,7 ± 1,3	4,8 ± 1,4	4,8 ± 1,4	4,8 ± 1,4

Fortsetzung Tabelle 3

Zeit (min)		65	70	75	80	85	90	95	100	105	110	115	120
RV	P	106,0 ± 1,0	108,3 ± 1,7	108,3 ± 1,7	108,3 ± 1,7	108,33 ± 1,7	108,7 ± 1,7	108,3 ± 1,7	108,3 ± 1,7	108,7 ± 1,3	109,3 ± 0,7	110 —	109,3 ± 0,7
	V _B	3,6 ± 0,2	3,6 ± 0,2	3,6 ± 0,3	3,5 ± 0,3	3,4 ± 0,2	3,4 ± 0,2	3,1 ± 0,2	3,0 ± 0,2	2,7 ± 0,2	2,7 ± 0,3	2,8 ± 0,3	2,8 ± 0,3
HV	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	V _B	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
GHE	P	111,0 ± 0,6	113,0 ± 2,5	109,3 ± 1,5	109,7 ± 1,8	108,7 ± 1,2	109,0 ± 2,5	110,0 ± 2,6	111,0 ± 2,1	110,3 ± 1,5	111,3 ± 2,4	111,7 ± 1,2	110,0 ± 0,6
	V _B	3,0 ± 1,1	3,0 ± 1,1	2,7 ± 1,0	2,7 ± 1,0	2,7 ± 0,9	2,7 ± 0,9	2,8 ± 0,9	2,7 ± 0,8	2,6 ± 0,7	2,5 ± 0,7	2,4 ± 0,7	2,4 ± 0,7
RLZ	P	112,0 ± 2,00	116,0 ± 1,3	117,0 ± 1,3	118,2 ± 1,3	113,2 ± 2,1	111,8 ± 1,2	111,8 ± 0,8	109,6 ± 1,3	110,8 ± 1,4	110,8 ± 1,4	109,4 ± 1,2	110,6 ± 1,3
	V _B	3,2 ± 0,5	3,0 ± 0,5	2,9 ± 0,5	2,7 ± 0,5	2,7 ± 0,5	2,7 ± 0,5	2,6 ± 0,4	2,4 ± 0,4	2,4 ± 0,4	2,3 ± 0,4	2,3 ± 0,4	2,2 ± 0,3
LZ	P	109,0 ± 2,5	112,6 ± 2,5	109,2 ± 2,0	110,4 ± 0,8	112,8 ± 1,3	111,2 ± 1,4	110,4 ± 0,9	111,4 ± 2,0	110,2 ± 0,9	111,8 ± 1,2	114,0 ± 0,7	112,2 ± 1,5
	V _B	4,2 ± 0,2	3,9 ± 0,3	3,5 ± 0,2	3,3 ± 0,3	3,0 ± 0,3	2,7 ± 0,4	2,6 ± 0,3	2,6 ± 0,4	2,4 ± 0,3	2,5 ± 0,3	2,3 ± 0,3	2,1 ± 0,3
LZ	P	116,4 ± 1,8	113,4 ± 2,1	112,0 ± 2,1	112,4 ± 2,5	112,6 ± 2,8	111,6 ± 3,2	111,6 ± 2,4	114,6 ± 1,7	112,0 ± 2,7	111,2 ± 2,7	112,0 ± 2,0	112,4 ± 1,3
	V _B	2,8 ± 0,2	1,8 ± 0,2	1,7 ± 0,2	1,5 ± 0,3	1,4 ± 0,2	1,4 ± 0,2	1,2 ± 0,2	1,1 ± 0,2	0,7 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,1
BZ	P	112,8 ± 1,2	112,8 ± 1,2	111,6 ± 1,5	112,0 ± 3,0	110,3 ± 2,1	113,3 ± 1,4	112,3 ± 1,3	110,8 ± 2,1	111,8 ± 1,2	111,3 ± 0,8	112,3 ± 1,5	110,7 ± 0,7
	V _B	1,5 ± 0,4	1,4 ± 0,4	1,3 ± 0,4	1,5 ± 0,4	1,3 ± 0,4	1,2 ± 0,3	1,0 ± 0,3	0,9 ± 0,3	0,9 ± 0,3	0,9 ± 0,3	1,0 ± 0,3	1,0 ± 0,2
YZ	P	111,6 ± 1,6	113,2 ± 1,5	111,8 ± 2,3	113,0 ± 1,0	112,4 ± 1,5	113,2 ± 2,6	110,0 ± 0,6	113,2 ± 0,6	112,4 ± 1,5	112,0 ± 1,2	111,0 ± 0,6	110,0 ± 0,6
	V _B	2,6 ± 0,2	2,2 ± 0,3	2,0 ± 0,3	1,7 ± 0,2	1,5 ± 0,2	1,4 ± 0,2	1,2 ± 0,2	1,1 ± 0,2	1,0 ± 0,2	0,9 ± 0,2	0,8 ± 0,1	0,8 ± 0,1
ALE	P	118,3 ± 3,2	119,7 ± 2,6	119,00 ± 2,1	119,0 ± 2,3	118,3 ± 1,1	118,3 ± 1,1	118,3 ± 1,1	119,7 ± 1,3	109,7 ± 3,2	109,7 ± 3,2	111,7 ± 0,9	111,7 ± 0,9
	V _B	7,3 ± 0,3	7,5 ± 0,1	7,6 ± 0,1	7,4 ± 0,3	7,4 ± 0,4	7,4 ± 0,4	7,4 ± 0,4	7,3 ± 0,4	6,9 ± 0,4	6,9 ± 0,4	6,8 ± 0,4	6,8 ± 0,4
LE	P	114,67 ± 1,5	110,7 ± 2,9	111,7 ± 1,3	111,0 ± 1,0	113,0 ± 0,6	113,0 ± 1,0	112,7 ± 1,3	110,00 ± 0,6	112,7 ± 1,5	109,3 ± 2,7	111,3 ± 2,7	110,7 ± 0,7
	V _B	4,6 ± 1,1	4,3 ± 1,3	4,3 ± 1,2	4,2 ± 1,4	4,2 ± 1,4	3,9 ± 1,3	3,7 ± 1,2	3,7 ± 1,1	3,6 ± 1,1	3,2 ± 0,8	3,2 ± 0,8	3,2 ± 0,9
LE	P	112,67 ± 1,9	113,0 ± 1,5	111,3 ± 1,3	112,0 ± 1,2	112,7 ± 1,3	112,7 ± 3,8	114,7 ± 1,2	112,7 ± 2,6	113,0 ± 1,7	113,0 ± 2,1	113,0 ± 1,7	114,3 ± 0,9
	V _B	2,2 ± 0,1	2,0 ± 0,1	1,8 ± 0,1	1,6 —	1,5 ± 0,1	1,4 ± 0,1	1,2 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,0 ± 0,1	0,9 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,8 ± 0,1
BE	P	110,3 ± 3,4	112,5 ± 3,3	110,3 ± 2,2	110,3 ± 2,6	113,0 ± 2,1	112,7 ± 1,5	112,00 ± 2,0	113,7 ± 0,3	112,0 ± 2,0	112,7 ± 1,8	112,0 ± 1,2	110,3 ± 1,2
	V _B	5,1 ± 0,7	5,1 ± 0,7	4,9 ± 0,7	4,6 ± 0,7	4,6 ± 0,7	4,4 ± 0,8	4,1 ± 0,9	4,0 ± 1,0	3,6 ± 0,9	3,3 ± 0,9	3,0 ± 1,0	2,8 ± 1,1
YE	P	113,7 ± 1,9	110,7 ± 0,7	109,3 ± 1,8	111,0 ± 0,6	112,3 ± 1,9	112,3 ± 0,9	113,3 ± 0,7	113,3 ± 0,9	109,0 ± 1,0	109,7 ± 0,3	109,0 ± 0,6	109,3 ± 0,9
	V _B	4,8 ± 1,4	4,6 ± 1,3	4,6 ± 1,3	4,7 ± 1,4	4,7 ± 1,4	4,7 ± 1,4	4,6 ± 1,4	4,6 ± 1,4	4,3 ± 1,4	4,3 ± 1,4	4,3 ± 1,4	4,3 ± 1,4

β) Fraktionen mit Zellen (Abb. 6, 7)

Perfusion mit AlZ und $\alpha_1\text{Z}$: Nach Eintritt der Hauptperfusion steigt das Perfusionsvolumen beider Versuchsgruppen von einem Anfangsperfusionsvolumen von 3,7 bzw. 3,3 ml/g·min an. Die Differenz der Perfusionsvolumina zwischen Perfusion mit RV und AlZ bzw. $\alpha_1\text{Z}$ ist zu keinem Zeitpunkt signifikant. Ab der 50. min ist der zeitliche Verlauf des Perfusionsvolumens bei Perfusion mit AlZ bzw. $\alpha_1\text{Z}$ ähnlich dem in den Versuchen mit RV: Das Perfusionsvolumen sinkt von der 50. min an langsam auf einen Endwert von 2,2 bzw. 2,1 ml/g·min in der 120. min ab.

Perfusion mit $\alpha_2\text{Z}$, βZ und γZ : Zu Beginn der Hauptperfusion liegt ein Anfangsperfusionsvolumen von 3,3 bzw. 3,5 bzw. 3,2 ml/g·min vor. Wie bei Perfusion mit GHE, AlZ und $\alpha_1\text{Z}$ steigt bei diesen Versuchen sofort nach Eintritt der Hauptperfusion das Perfusionsvolumen steil an (bei Perfusion mit βZ liegt sogar ein gegenüber der Perfusion mit RV signifikant höheres Perfusionsvolumen in der 5. min vor ($p < 0,01$). Die Perfusionsvolumina von βZ und γZ fallen nach der 10. min, das von $\alpha_2\text{Z}$ nach der 35. min wieder scharf ab und liegt bei Perfusion mit βZ ab der 30. min, mit $\alpha_2\text{Z}$ und γZ ab der 55. min signifikant unter dem Perfusionsvolumen der allogenen Kontrollgruppe mit RV. Das Perfusionsvolumen in der 120. min ist bei Perfusion mit $\alpha_2\text{Z}$ mit 0,5 ml/g·min, mit βZ mit 1,0 ml/g·min und mit γZ mit 0,8 ml/g·min signifikant kleiner als das der allogenen Kontrollgruppe ($p < 0,001$ bzw. $p < 0,01$ bzw. $p < 0,001$).

γ) Fraktionen mit Erythrozyten (Abb. 8, 9)

Perfusion mit AlE : Es findet sich ein Anfangsperfusionsvolumen von 3,8 ml/g·min. Innerhalb der ersten 30 Hauptperfusionsminuten steigt das Perfusionsvolumen von diesem Wert auf 7,3 ml/g·min und liegt damit (ab der 15. min) signifikant über dem Perfusionsvolumen der allogenen Kontrollversuche mit RV ($p < 0,001$). In der 120. min liegt noch ein Perfusionsvolumen von 6,8 ml/g·min vor.

Perfusion mit $\alpha_1\text{E}$, βE und γE : Es liegt ein Anfangsperfusionsvolumen von 3,2 ml/g·min bei Perfusion mit $\alpha_1\text{E}$ bzw. βE und von 3,1 ml/g·min bei Perfusion mit γE vor. Ein deutlicher Anstieg des Perfusionsvolumens nach Beginn der

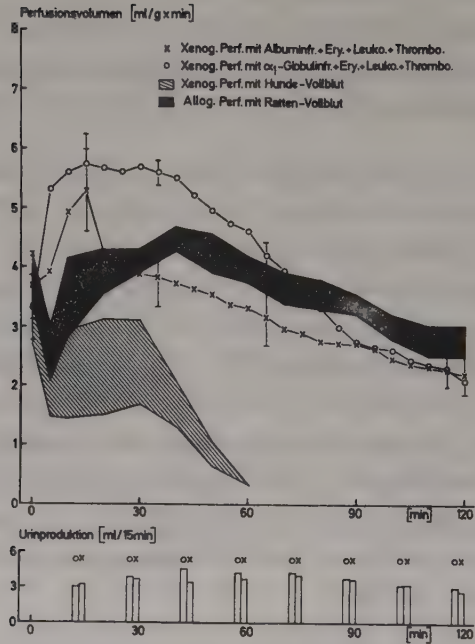


Abb. 6 Perfusionsvolumen und Urinproduktion bei xenogen hämoperfundenen Rattennieren.

Perfusat: Zellen (Erythrozyten, Leukozyten, Thrombozyten) + Fraktionen (n = 5).

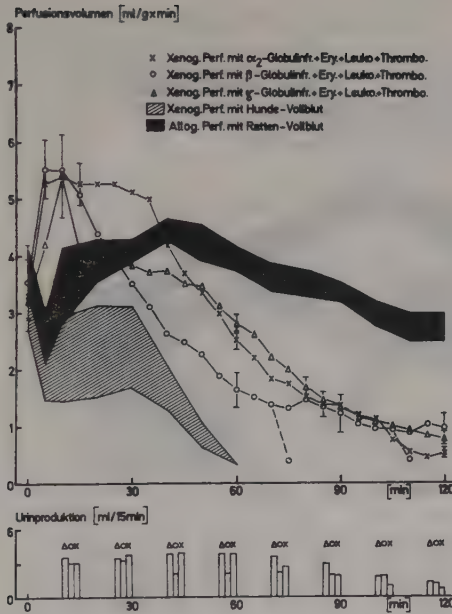


Abb. 7 Perfusionsvolumen und Urinproduktion bei xenogen hämoperfundenen Rattennieren.
Perfusat: Zellen (Erythrozyten, Leukozyten, Thrombozyten) + Fraktionen (n = 5).

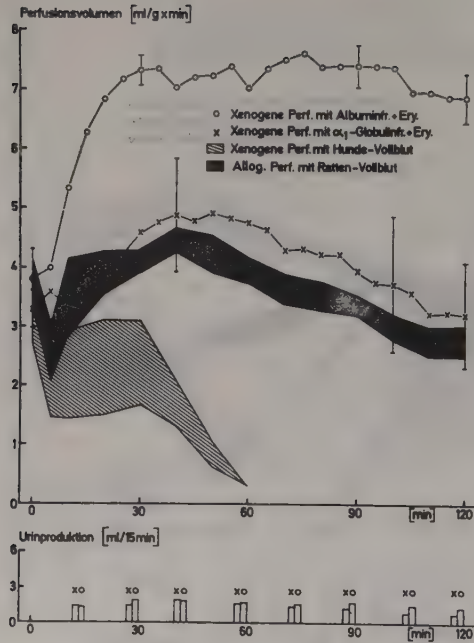


Abb. 8 Perfusion und Urinproduktion bei xenogen hämoperfunden Ratten-
nieren.

Perfusat: Erythrozyten + Fraktionen (n = 3).

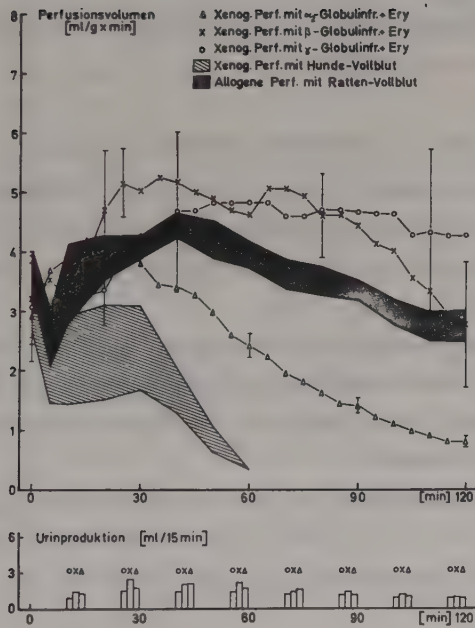


Abb. 9 Perfusionsvolumen und Urinproduktion bei xenogen hämoperfundenen Rattennieren.

Perfusat: Erythrozyten + Fraktionen (n = 3).

Hauptperfusion ist bei diesen Versuchsgruppen nicht ausgeprägt. Der zeitliche Verlauf der Perfusionsvolumina liegt bei allen drei Gruppen leicht, aber nicht signifikant über dem Verlauf des Perfusionsvolumens der Versuchsgruppe mit RV. In der 120. min besitzt α_1 E ein Perfusionsvolumen von 3, 2 ml/g·min, β E von 2, 8 ml/g·min und γ E von 4, 3 ml/g·min.

Perfusion mit α_2 E: Von einem Anfangsperfusionsvolumen von 2, 9 ml/g·min steigt das Perfusionsvolumen bei Perfusion mit α_2 E auf 4, 2 ml/g·min in der 20. min. Ab der 55. min liegt das Perfusionsvolumen signifikant unter dem der allogenen Kontrollgruppe mit RV. In der 120. min besitzt α_2 E nur noch ein Perfusionsvolumen von 0, 8 ml/g·min.

d) Das Verhalten der Urinproduktion (Tabelle 4, Abb. 5 - 9)

Urinvolumina: Es wurden die pro 15 min produzierten Urinvolumina gemessen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 zusammengestellt und in Bild 5 - 9 graphisch dargestellt. Allgemein verlief die Urinausscheidung synchron mit dem Verlauf des Perfusionsvolumens.

Verhältnis Urinosmolarität/Serumosmolarität: Die Bestimmung des Quotienten Urinosmolarität/Serumosmolarität am Perfusionsende ergab weder in den allogenen noch in den xenogenen Versuchen einen Hinweis auf Konzentrationsarbeit des Nierenparenchyms (Tabelle 5).

Erythrozytenausscheidung im Urin: Gegen Perfusionsende wurde bei den Versuchen mit HV, α_2 Z, β Z und γ Z eine Hämaturie beobachtet; Auszählung des Endurins von je einem Einzelversuch ergab 1600, 2000, 1200, bzw. 2400 Erythrozyten/mm³ Urin.

e) Verhalten des Nierengewichts (Tabelle 5)

Es wurde das Feuchtgewicht der rechten, unperfundierten mit der linken perfundierten Niere eines Spendertieres verglichen. Die prozentuale Gewichtszunahme wurde auf das Gewicht der rechten Niere bezogen. Eine Korrelation zwischen den Gewichtszunahmen und dem Verhalten der Perfusionsvolumina kann nicht festgestellt werden. So liegt zwar bei Perfusion mit RV mit 39, 7 % die kleinste Gewichts-

Tabelle 4

Produzierte Urinmengen (ml/15 min) im Verlauf 120minütiger Hämoperfusion
mit Rattenvollblut, Hunde-Vollblut und -Serumfraktionen.

Perfusion mit:	15 min	30 min	45 min	60 min	75 min	90 min	105 min	120 min
RV	1,9 ± 0,3	2,3 ± 0,2	2,1 ± 0,1	1,7 ± 0,3	1,5 ± 0,2	1,6 ± 0,2	1,4 ± 0,3	1,0 ± 0,3
HV	1,1 ± 0,2	0,8 ± 0,3	0,8 ± 0,4	0,6 -				
GHE	2,3 ± 0,3	2,7 ± 0,4	3,2 ± 0,9	2,5 ± 0,5	2,6 ± 0,2	2,7 ± 0,3	2,3 ± 0,3	2,5 ± 0,5
AlZ	3,2 ± 0,3	3,7 ± 0,4	3,4 ± 0,2	3,7 ± 0,2	4,0 ± 0,5	3,6 ± 0,6	3,2 ± 0,6	2,6 ± 0,4
$\alpha_1 Z$	3,0 ± 0,6	3,8 ± 0,5	4,5 ± 0,3	4,1 ± 0,1	4,1 ± 0,2	3,7 ± 0,4	3,1 ± 0,3	3,0 ± 0,3
$\alpha_2 Z$	3,1 ± 0,6	3,7 ± 0,5	3,9 ± 0,4	3,8 ± 0,4	2,6 ± 0,7	1,9 ± 0,7	1,0 ± 0,2	0,7 ± 0,3
βZ	3,0 ± 0,5	3,2 ± 0,5	2,1 ± 0,6	2,1 ± 0,7	2,1 ± 0,6	1,9 ± 0,6	1,8 ± 0,6	1,2 ± 0,3
γZ	3,5 ± 0,6	3,4 ± 0,6	3,8 ± 0,6	3,8 ± 0,5	3,6 ± 0,5	2,9 ± 0,4	1,7 ± 0,1	1,3 ± 0,2
AlE	1,4 ± 0,2	1,9 ± 0,3	1,8 ± 0,2	1,7 ± 0,2	1,5 ± 0,2	1,7 ± 0,2	1,5 -	1,3 ± 0,2
$\alpha_1 E$	1,4 ± 0,6	1,5 -	1,9 ± 0,4	1,6 ± 0,1	1,3 ± 0,3	1,2 ± 0,3	0,8 ± 0,2	0,7 ± 0,2
$\alpha_2 E$	1,3 ± 0,3	1,7 ± 0,3	2,1 ± 0,4	1,8 ± 0,2	1,7 ± 0,2	1,2 ± 0,2	1,1 ± 0,3	1,0 ± 0,3
βE	1,5 ± 0,4	2,5 ± 1,0	2,1 ± 0,5	2,2 ± 0,6	1,4 ± 0,1	1,4 ± 0,1	1,3 ± 0,1	1,0 ± 0,2
γE	1,0 ± 0,4	1,6 ± 0,2	1,4 ± 0,1	1,5 -	1,3 ± 0,1	1,2 ± 0,1	1,0 -	0,9 -

RV (n = 3), HV (n = 5), GHE (n = 3), AlZ (n = 5), $\alpha_1 Z$ (n = 5), $\alpha_2 Z$ (n = 5), βZ (n = 5), γZ (n = 5), AlE (n = 3), $\alpha_1 E$ (n = 3), $\alpha_2 E$ (n = 3), βE (n = 3), γE (n = 3).

(Abkürzungen siehe S. 1)

Tabelle 5 Meßwerte der Laufzeit, der Dauer der funktionellen Perfusion, des Quotienten aus Osmolarität des Serums und des Urins am Perfusionsende und der Gewichtszunahme der Nieren bei Hämoperfusion von Rattennieren mit Rattenvollblut, Hund-Vollblut und -Serumfraktionen.

Perfusion mit:	T _l	T _f	U/S osm.	G _{re}	G _{li}	ΔG
RV	120	>120	1,1	1,1	1,6	39,7
	-		± 0,1	± 0,1	± 0,2	± 6,2
HV	44,6	34,0	0,9	1,1	1,6	41,4
	± 8,9	± 9,9	± 0,1	± 0,1	± 0,1	± 2,0
GHE	120	>120	0,9	0,9	1,4	57,7
	-		-	± 0,1	± 0,1	± 5,5
AlZ	120	>120	1,0	1,0	1,6	58,0
	-		± 0,1	± 0,1	± 0,2	± 8,0
α ₁ Z	120	>120	0,9	1,1	1,6	55,4
	-		± 0,1	± 0,1	-	± 6,0
α ₂ Z	120	106,0	0,9	1,0	1,5	66,2
	-	± 6,6	-	-	-	± 5,3
ßZ	120	86,0	1,0	1,1	1,8	54,4
	-	± 11,1	± 0,1	-	± 0,1	± 4,0
γZ	120	106,0	0,9	1,1	1,7	53,6
	-	± 6,6	± 0,1	± 0,1	± 0,1	± 8,8
AlE	120	>120	0,9	0,9	1,4	66,7
	-		± 0,1	-	-	± 2,7
α ₁ E	120	>120	1,1	0,9	1,4	51,7
	-		± 0,1	± 0,1	± 0,2	± 9,3
α ₂ E	120	110,0	0,9	0,8	1,2	46,3
	-	± 2,9	± 0,1	-	± 0,1	± 8,1
ßE	120	>120	1,0	0,9	1,3	48,3
	-		± 0,1	± 0,1	± 0,2	± 2,9
γE	120	>120	0,9	1,0	1,4	45,3
	-		-	± 0,1	± 0,1	± 1,8

RV (n = 3), HV (n = 5), GHE (n = 3), ALZ (n = 5), α₁Z (n = 5), α₂Z (n = 5), ßZ (n = 5), γZ (n = 5), AlE (n = 3), α₁E (n = 3), α₂E (n = 3), ßE (n = 3), γE (n = 3).

Zeichenerklärung und Einheiten: T_l = Laufzeit (min), T_f = funktionelle Perfusion (min), U/S osm. = Quotient aus Osmolarität des Serums und des Urins am Perfusionsende, G_{re} = Gewicht der rechten, nichtperfundierten bzw. der linken, perfundierten Niere (g), ΔG = Gewichtszunahme der Niere (in % des Ausgangsgewichts). (Abkürzungen siehe S. 1)

zunahme vor, doch wurden in den α_2 Z und AIE Versuchen mit 66,2 bzw. 66,7 % trotz gegensätzlichem Verhalten der Perfusionsvolumina die größten Gewichts-
nahmen gefunden.

Zusammenfassend: Die Rattennieren wurden unter vergleichbaren Versuchsbedingungen perfundiert. Bei Perfusion mit Serumfraktionen in Kombination mit peripheren Blutzellen (Erythrozyten, Leukozyten, Thrombozyten) fallen die Perfusionsvolumina in den α_2 -, β - und γ -Globulin-Versuchen im Vergleich zu den allo-
genen Kontrollen signifikant ab. Hinsichtlich der Abnahme des Perfusionsvolumens zeigte sich eine unterschiedlich Abhängigkeit der Serumfraktionen von der Anwesenheit von Leukozyten und Thrombozyten: Perfusion mit den α_2 -Globulinfraktionen kombiniert mit nur Erythrozyten ergab weiterhin einen signifikanten Abfall des Perfusionsvolumens, der in den Versuchen mit β - und γ -Globulinfraktionen und Erythrozyten nicht mehr beobachtet werden konnte. Am schnellsten läuft das Abstoßungsgeschehen bei Perfusion mit β -Globulinfraktionen in Kombination mit peripheren Blutzellen ab, wie durch die kürzesten funktionellen Perfusionszeiten gezeigt wird. In den β -Globulinfraktionen wurden die höchsten Titer präformierter Antikörper gefunden.

Die Urinproduktion der Nieren verhält sich proportional zum Perfusionsvolumen, auch in den Nieren, deren Perfusionsvolumen signifikant unter das der allo-
genen Kontrollen absinkt. Am Perfusionsende zeigen alle Nieren keine Fähigkeit zur Harnkonzentrierung mehr.

Eine Korrelation zwischen den Änderungen der Nierengewichte und den Änderungen der Nierenperfusionsvolumina kann nicht festgestellt werden.

3. Pathologische Befunde der Nieren

a) Makroskopische Veränderungen: Die Vorperfusion wurde beendet, wenn das Rat-
tenblut vollständig aus den Nieren ausgespült worden war. Zu diesem Zeitpunkt erschien die Nierenoberfläche einheitlich beige. Auf Schnittflächen vorperfundierter Nieren hatten die Nierenrinden eine beige Farbe; die Markkegel hoben sich dagegen weiß ab. Bereits nach zweiminütiger Hauptperfusionszeit zeigten die Organe wieder eine normale rotbraune Farbe. In den Versuchen mit HV, α_2 Z, β Z und γ Z

traten im Verlauf der Perfusion disseminierte kirschrote, stecknadelkopfgroße Petechien auf und gegen Ende der Perfusion verfärbten sich große Bezirke der Nierenoberfläche dunkelblau bis violett. Bei Perfusion mit α_2 E konnte ebenfalls die Ausbildung von dunkelblauen bis violetten Flecken beobachtet werden; disseminierte, kirschrote Petechien traten in dieser Versuchsgruppe nicht auf. Nach Beendigung der Hauptperfusion imponierte auf den Schnittflächen der Nieren aus den Versuchen mit HV, α_2 Z, β Z und γ Z die hämorrhagische, dunkelrote Verfärbung von Mark und Rinde, wogegen sich das Nierenbecken milchglasfarben abhob. Die Nieren der übrigen Versuche behielten ihre rotbraune Farbe bis zum Perfusionsende bei.

b) Mikroskopische Veränderungen⁺: In Tabelle 6 sind die wesentlichsten path. - histologischen Veränderungen zusammengestellt. Tabelle 7 gibt eine Übersicht über den in den Einzelversuchen erreichten Grad der Abstoßung. Die im folgenden Text in Klammern angegebene Bezeichnung Hund 1, 2, soll angeben aus welchem Hund die verwendete Fraktion stammt (vgl. Tabelle 1).

Kontrollen:

RV und GHE: Die Perfusionsversuche mit RV und GHE zeigen die Wertigkeit der Perfusionsmethode: es konnten keine wesentlichen path. - histologischen Veränderungen beobachtet werden (Grad 0). Die in einem von drei GHE Versuchen aufgetretene leichte Dilatation der Tubuli beruht auf einer hypoxischen Schädigung.

HV: Perfusion mit HV ergab in allen fünf Versuchen das Bild einer Vollabstoßung (Grad 2) mit obliterierenden Fibrin- und Thrombozytenthromben in den vasa afferentia und in den Kapillarschlingen der Glomerula und schweren Endothel- und Mesangiumnekrosen. Die Tubuli waren stark dilatiert, was auf schwere hypoxische Schädigung schließen läßt. Eine Niere, bei der die Perfusion wegen eines technischen Fehlers nach 5 min abgebrochen werden mußte, zeigte Thrombozytenaggregate auf dem Endothel der vasa afferentia.

+ Für die Überlassung des Abstoßungsschemas, der histologischen Befunde und Abbildungen bin ich Herrn Dr. K. Pielsticker vom Patholog. Institut der Univ. München sehr zu Dank verpflichtet.

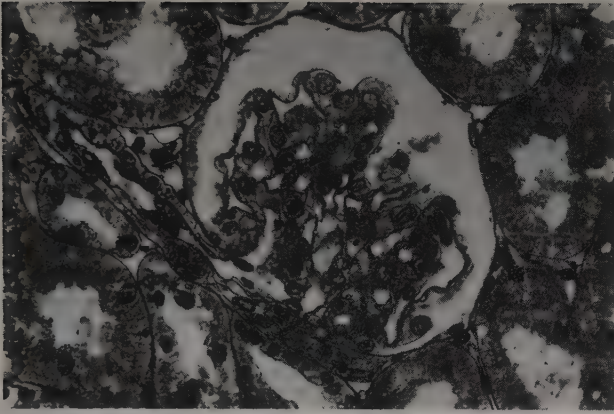


Abb. 10 Keine Abstoßungszeichen (Grad 0). Allogene Perfusion mit Rattenvollblut. Glomerulum mit kollabierten Schlingenkapillaren. Endothel im Glomerulum und Vas afferens gut erhalten. (Gomori-Versilberung, 480fach)

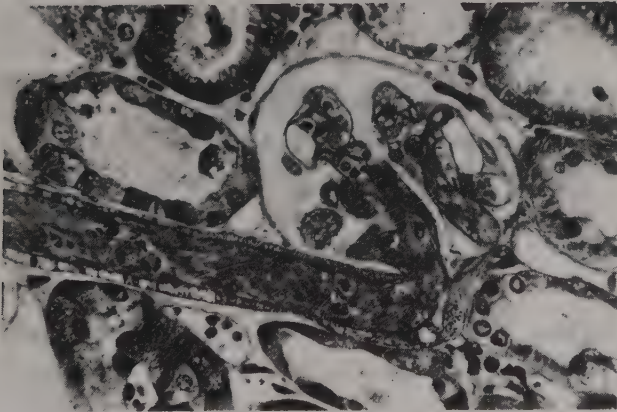


Abb. 11 Vollabstoßung (Grad 2). Xenogene Perfusion mit Hundevollblut. Obliterierende Thromben aus Fibrin und Thrombozyten im Vas afferens und in Glomerulumkapillaren mit Endothel- und Mesangiumnekrosen. (Giemsa, 480fach)

Tabelle 6

Zusammenstellung path. -histologischer Veränderungen von Rattennieren nach Hämoperfusion mit Rattenvollblut, Hunde-Vollblut und -Serumfraktionen.

Versuch	Vasaferrens	Glomerulum		Mesangium	Tubulus
		Kapillarlumen	Endothel		
RV	+(3/3)	Kollaps (2/3)	+(3/3)	+(3/3)	+(3/3)
HV	Fibrin und Thromboz. Thromben (5/5)	Fibrin und Thrombozyten Thromben (5/5)	Nekrosen (5/5)	Nekrosen (5/5)	starke Dilatation (5/5)
GHE	+(3/3)	Kollaps (3/3)	+(3/3)	+(3/3)	+(2/3) Dilatation (1/3)
AlZ	+(5/5)	+ (5/5)	+(2/5) Vakuolen (3/5)	+(5/5)	+(3/5) Dilatation (2/5)
α_1 Z	+(5/5)	+ (4/5) Fibrin-Thromben (1/5)	+(3/5) Nekrosen (1/5) Kernpyknose (1/5)	+(4/5) Nekrosen (1/5)	Dilatation (5/5)
α_2 Z	+(3/5) Fibrin und Thrombozyten Thromben (2/5)	Kollaps (5/5) Fibrin und Thrombozyten Thromben (2/5)	+(3/5) Nekrosen (2/5)	+(3/5) Nekrosen (2/5)	starke Dilatation (5/5)
β Z	+(3/5) Fibrin und Thrombozyten Thromben (2/5)	Kollaps (5/5) Fibrin und Thrombozyten Thromben (2/5)	+(2/5) Nekrosen (2/5) Kernpyknose (1/5)	+(2/5) Nekrosen (2/5) Kernpyknose (1/5)	starke Dilatation (5/5)
γ Z	+(5/5)	Kollaps (5/5) Fibrin-Thromben (1/5)	Kernpyknose (5/5)	Kernpyknose (5/5) Karyorhexis (5/5)	starke Dilatation (5/5)
AlE	+(3/3)	+ (3/3)	+(3/3)	+(3/3)	+(3/3)
α_1 E	+(3/3)	+ (3/3)	+(3/3)	+(3/3)	Dilatation (3/3)
α_2 E	+(3/3)	+ (3/3)	+(3/3)	+(3/3)	starke Dilatation (3/3)
δ E	+(3/3)	+ (3/3)	+(3/3)	+(3/3)	+(3/3)
γ E	+(3/3)	+ (3/3)	+(3/3)	+(3/3)	+(1/3) Dilatation (2/3)

RV (n = 3), HV (n = 5), GHE (n = 3), AlZ (n = 5), α_1 Z (n = 5), α_2 Z (n = 5), β Z (n = 5), γ Z (n = 5), AlE (n = 3), α_1 E (n = 3), α_2 E (n = 3), δ E (n = 3), γ E (n = 3)

In Klammern jeweils die Zahl der Versuche mit entsprechendem Ergebnis/Gesamtversuchszahl; += gut erhalten.

(Abkürzungen siehe S. 1).

Tabelle 7 Histologischer Grad der Abstoßungsreaktion bei Hämoperfusion von Rattennieren mit Rattenvollblut, Hund-Vollblut und -Serumfraktionen

Hund	1	2	3	4	5
Rattenvollblut	0	0	0		
Hundevollblut	2	2	2	2	2
Gelifundol + Hunde-Ery.	0	0	0		
Albuminfr + Zellen	0	0	0	0	0
α_1 -Glob. -Fr. + Zellen	0	0	2	1	0
α_2 -Glob. -Fr. + Zellen	2	0	2	0	0
β -Glob. -Fr. + Zellen	1	2	0	0	2
γ -Glob. -Fr. + Zellen	1	1	1	1	1
Albumin + Ery.	0		0	0	
α_1 -Glob. -Fr. + Ery.	0		0	0	
α_2 -Glob. -Fr. + Ery.	0		0	0	
β -Glob. -Fr. + Ery.	0		0	0	
γ -Glob. -Fr. + Ery.	0		0	0	

0 = keine Abstoßung, 1 = Teilabstoßung, 2 = Vollabstoßung.

(In Zeile 1 sind mit 1 - 5 die Hunde angegeben von denen die Serumfraktionen stammen.)

Fraktionen mit Zellen:

AlZ: Nach Perfusion mit AlZ konnten außer Vakuolen in den Endothelzellen und einer leichten Dilatation der Tubuli keine path. -histologischen Veränderungen festgestellt werden (Grad 0).

γ Z: Einheitlich wurde in allen fünf Versuchen eine Teilabstoßung (Grad 1) festgestellt. Die Nieren zeigten Fibrinablagerungen in den Kapillarschlingen einzelner Glomerula, Kernpyknose, bzw. Kernpyknose und Karyorhoxis der Endothel- und Mesangiumzellen und hypoxische Schäden der Tubuli.

Die übrigen Versuchsgruppen mit Fraktionen und Zellen wiesen unterschiedliche path. -histologische Veränderungen der Einzelversuche auf.

α_1 Z: So wurde nach Perfusion mit α_1 Z nur in einem Versuch (Hund 3) bei Fibrinfärbung in Kapillarschlingen einzelner Glomerula fibrinpositive Niederschläge nachgewiesen; in diesem Versuch wurden auch Endothel- und Mesangiumnekrosen gefunden (Grad 2). Ein weiterer Versuch (Hund 4) zeigte lediglich Kernpyknose der Endothelzellen und Mesangiumnekrosen einzelner Glomerula (Grad 1), während die übrigen Versuche außer der Hypoxischen Dilatation der Tubuli, die in allen fünf Versuchen dieser Gruppe auftrat, keine histologischen Veränderungen zeigten.

α_2 Z: In zwei Versuchen (Hund 1, 3) wurde das histologische Bild einer Vollabstoßung (Grad 2) erhalten, während bei den übrigen Versuchen dieser Gruppe kein Abstoßungszeichen gefunden werden konnte. Alle fünf Versuche zeigten stark hypoxisch dilatierte Tubuli.

β Z: In dieser Versuchsgruppe wurde ebenfalls in zwei Versuchen (Hund 2, 5) das Bild einer Vollabstoßung gefunden (Grad 2). Ein Versuch (Hund 1) zeigte Kernpyknose der Endothel- und Mesangiumzellen (Grad 1). Hypoxisch stark dilatierte Tubuli lagen auch in dieser Gruppe bei allen fünf Versuchen vor.

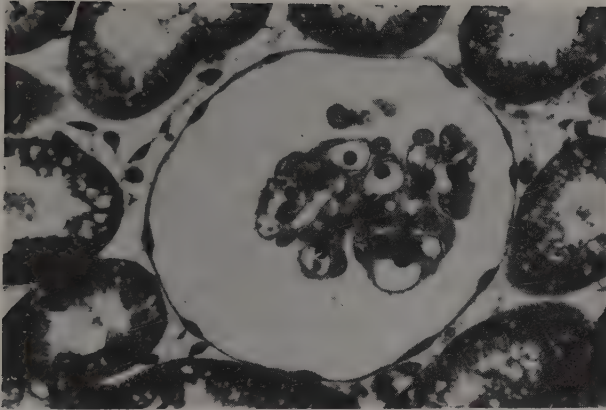


Abb. 12 Teilabstoßung (Grad 1)

Xenogene Perfusion mit γ -Globulinfraktion + Zellen
Glomerulum mit Pyknose der Endothelzellen. Deutliche
hypoxische Tubulusveränderungen (Vakuolen)
(Giemsa, 480fach)

Fraktionen mit Erythrozyten:

Alle Organe, die mit Serumfraktionen und Erythrozyten perfundiert wurden, zeigten nach Beendigung der Perfusion keine wesentliche path.-histologische Veränderung. In einigen Versuchen wurden allerdings leichte hypoxische Schädigungen der Tubuli beobachtet. Ein Vergleich zwischen α_2 Z und α_2 E Versuchen zeigt, daß bei ähnlichem Verhalten der Perfusionsvolumina ein unterschiedliches histologisches Untersuchungsergebnis vorliegt.

Zusammenfassend: Hinsichtlich der histologischen Veränderungen kann aus der Tabelle 7 eine Abhängigkeit der Serumfraktionen von der Anwesenheit von Leukozyten und Thrombozyten ersehen werden: Perfusion mit α_1^- , α_2^- , β^- und γ^- -Globulin-

fraktionen kombiniert mit peripheren Blutzellen ergibt histologische Veränderungen, die bei Kombination mit nur Erythrozyten nicht beobachtet werden. Innerhalb der einzelnen Versuchsgruppen ($\alpha_1 Z$, $\alpha_2 Z$, βZ , γZ) differiert das Ausmaß der histologischen Veränderungen zwischen den Einzelversuchen. Eine Korrelation zwischen Perfusionsverhalten und den gefundenen histologischen Veränderungen kann nicht gesehen werden.

D) DISKUSSION

I. Unterscheidung zwischen Xeno- und Hetero- bzw. konkordanter und diskordanter Transplantation

Bereits 1902 gab ULLMANN (94) einen Versuch an, bei dem er eine Ziegenniere auf einen Hund transplantierte. Weitere Xenotransplantationen wurden u. a. von JABOULAY (40), UNGER (95), CARELL (14) und AVRAMONICI (3) berichtet. Die Überlebenszeiten der Transplantate waren bei allen Autoren wenig ermutigend.

Nachdem erkannt worden war, daß die Transplantationsphänomene immunologischen Ursprungs sind, berichteten in den letzten Jahren mehrere Gruppen über Hetero- und Xenotransplantation am Menschen (80, 81, 89). Dabei wurde beobachtet, daß die Überlebenszeit der Transplantate von dem Ausmaß der genetischen Unterschiede zwischen Spender und Empfänger abhängt. Eine Schimpansenniere arbeitete im Empfänger 9 Monate (80), während eine Schweineniere nur 375 Minuten funktionierte (76).

REEMTSMA (78, 79) forderte deshalb eine Unterscheidung zwischen Hetero- und Xenotransplantation: Heterotransplantation wird als Verpflanzung über Gattungs- und Familiengrenzen hinweg definiert; unter Xenotransplantation versteht REEMTSMA eine Organübertragung zwischen Spender und Empfänger mit noch größerem zoologischen Unterschied.

Dagegen schlug CALNE (11) eine Einteilung der Transplantation vor, die sich nach dem Verhalten des Transplantats nach Anschluß an den Empfängerkreislauf richtet. Danach soll zwischen konkordanter und diskordanter Transplantation unterschieden werden. Konkordante Transplantation wäre der Oberbegriff für Transplantationen, bei denen eine volle Funktion der Transplantate über einen längeren Zeitraum erhalten würde. Unter diskordanter Transplantation würden alle Transplantationen mit akut verlaufender Abstoßungsreaktion zusammengefaßt werden. Diese Unterscheidung hat den Vorteil, daß sie auch nicht immunologisch bedingten Abstoßungsfaktoren Rechnung trägt. In dieser Arbeit wird nur der Begriff Hetero- bzw. Xenotransplantation verwendet, da er bereits in der Literatur gebräuchlich ist. Außerdem bedürfte die Unterscheidung in konkordante und diskordante Trans-

plantation einer exakten Definition der Grenze zwischen akut verlaufender Abstoßung und voller Funktion über einen längeren Zeitraum.

II. Diskussion der Methodik

In diesem Kapitel soll unser Perfusionsmodell und unsere Perfusionstechnik mit der Literatur verglichen werden. Insbesondere sollen dabei die Faktoren, die ätiologisch für die Abnahme des Perfusionsvolumens bzw. den Anstieg des Strömungswiderstandes der allogenen Kontrollversuche in Frage kommen herausgestellt werden. Außerdem ist die genaue Beurteilung der Serumfraktionen wesentlich, da sie eine Voraussetzung für die anschließende Diskussion der Perfusionsergebnisse bildet. Abschließend werden in der Besprechung der Wertigkeit des Modells die Abstoßungskriterien anhand der Ergebnisse der allogenen Kontrollversuche untersucht.

1. Besprechung des Perfusionsmodells und der Perfusionstechnik; Veränderungen gegenüber den Vorversuchen von v. Liebe; Pulsatile - nicht pulsatile Perfusion; Dilution und Substitution des Perfusats

a) Veränderungen des Modells gegenüber den Vorversuchen von v. LIEBE

Neue Konzeption des Oxygenators: Die Kapillaroxygenatoren zählen zu den Membranoxygenatoren. Bei Verwendung von Membranoxygenatoren ergeben sich mehrere Vorteile: G. H. MARX (61, 62) und R. WELLS (99) beschrieben eine Verminderung der mechanischen Zellschädigung. Durch Vermeidung einer Blut-Gasinterphase kommt es nicht zur Denaturierung großer globulärer Proteine (6). D. B. ALLERDYCE (2) beobachtete eine verminderte Bildung von Zell-Fibrin Emboli. Ein weiterer entscheidender Vorteil der Membran ist die vollständige Eliminierung von kleinen Bläschen, die u. U. die Gefäße des perfundierten Organs verschließen können. Die Membranen des verwendeten Kapillaroxygenators bestehen aus Silikonkautschuk, ein Werkstoff, der sich gegenüber dem Blut relativ inert verhält (10, 32, 61).

T. I. MARX (63) wies in seinen Diffusionsuntersuchungen auf ein Problem der Membranoxygenatoren nämlich die Ausbildung einer Grenzschicht hin. Durch die

Grenzschicht entsteht ein völlig oxygenierter und unbewegter Blutfilm, der sich an die Membran heftet. Dieser oxygenierte Blutfilm stellt ein besonders großes Hindernis für die Sauerstoffdiffusion dar. Diese Erkenntnis führte zur Neukonzipierung des Oxygenators. Die in Metallrastern vergossenen Silikonkautschuk-Kapillaren wurden unter Spannung in eine Plexiglashülse gehängt. Der Sauerstoff trifft senkrecht zur Verlaufsrichtung der Kapillaren auf und bringt diese in leichte Schwingungen. Dadurch wird eine Verschiebung des oxygenierten Blutfilms erreicht. Ein weiterer Vorteil der Neukonstruktion liegt in der einfachen Wartung des Oxygenators; er kann mit geringem Aufwand völlig zerlegt, gereinigt und wieder zusammengebaut werden.

Occlusivstellung der Pumpe: In den Versuchen von S. v. LIEBE (54) wurde die Pumpe durch eine Schablone, die zwischen Pumpenbacken und Pumpenwalze geklemmt wurde, eingestellt. Diese Schablone war so bemessen, daß ihre Breite genau dem Occlusiv-Abstand entsprach. Die in BII2 beschriebene neue Methode der Occlusiveinstellung gegen den hydraulischen Druck einer Wassersäule von definierter Höhe, besitzt gegenüber der Schabloneneinstellung folgende Vorteile: Erstens kann der für die Occlusiveinstellung minimal notwendige Anpreßdruck eingestellt werden. Der Pumpenschlauch wird so nur mit den minimalen Scherkräften beansprucht. Dadurch wird eine wesentliche Verlängerung seiner Lebensdauer erzielt. Zweitens können durch Abnützung auftretende Veränderungen im Lagerspiel der Pumpenachse ausgeglichen werden. Somit ist die Konstanz des Fördervolumens pro Umdrehung der Pumpe über die Dauer sämtlicher Versuche garantiert.

Belastung der Spendertiere mit hypotoner NaCl: es wurde eine Korrelation zwischen exogenen Einflüssen (wie Transport der Tiere, Föhn, heißes Wetter) auf die Ratten und dem Verhalten des Perfusionsvolumens beobachtet. Stehen die Tiere unter derartigen Einflüssen, kann häufig das kritische Perfusionsvolumen (siehe BV 2) nicht erreicht werden. Nachdem sämtliche Spendertiere 45 min vor Operationsbeginn mit hypotoner NaCl (0,45 %ig, 5 ml/100 g KG über Magenschlauch) belastet worden waren, werden keine extremen Abweichungen vom üblichen Perfusionsverhalten der excidierten Nieren mehr beobachtet.

Die Belastung der Tiere führt zu einer Expansion der extrazellulären Flüssigkeit bzw. zu einer Hypervolämie. Eine Zunahme der renalen Durchblutung bei Hyper-

volämie wurde von mehreren Autoren beobachtet (31, 40, 49). Durch die Hypervolämie müßte es zu einer Abnahme der Na-Harnkonzentration im Bereich der macula densa kommen. Da die Reninsekretion des juxtaglomerulären Apparates von der Höhe der Na-Konzentration im Bereich der macula densa abhängig ist, kommt es zu einer verminderten Reninausschüttung und damit zu einer verminderten Angiotensinbildung. Der Tonus der vasa afferentia ist Angiotensin abhängig. Somit resultiert eine Dilatation der vasa afferentia und eine folgende Mehrdurchblutung.

b) Pulsatile - nicht pulsatile Perfusion

Mit einer Druckamplitude von 14 mmHg ist die in diesen Versuchen verwendete Perfusion als nur schwach pulsatil bzw. als nahezu kontinuierlich zu bezeichnen. In mehreren Arbeiten wurde pulsatile mit kontinuierlicher Perfusion verglichen. I. MANDELBAUM et al. (59) und K. NAKAYANA (70) beobachteten bei kontinuierlicher Perfusion einen größeren Anstieg des Gefäßwiderstandes als bei pulsatiler Perfusion. K. J. PAQUET (74, 75) fand bei kontinuierlicher im Vergleich mit pulsatiler Perfusion eine größere Hämolyse (95 mg% gegenüber 70 mg%), größere Hämatokritschwankungen und größere Gewichtszunahme des perfundierten Organs. In den Versuchen von PAQUET sank der pH-Wert des Perfusats bei kontinuierlicher Perfusion, während sie bei pulsatiler konstant blieb. Auch bei der Phenolrotprobe, ein Test zur Beurteilung der renalen Durchblutung und der tubulären Funktion, ergab die pulsatile Perfusion bessere Resultate. Für die vorliegende Fragestellung ist jedoch entscheidend, daß bei pulsatiler Perfusion Tubulusläsionen vermehrt auftreten (74, 75). Für die histologische Bewertung der hyperakuten Abstoßung sollten nicht abstoßungsbedingte Veränderungen möglichst vermieden werden. Deshalb wurde in den vorliegenden Versuchen die kontinuierliche Perfusion vorgezogen.

c) Dilution und Substitution des Perfusats

F. O. BELZER diluierte in seinen Versuchen das Plasma in einem Verhältnis von 1:3 mit isotoner Elektrolytlösung und erreichte dadurch, daß der Widerstand gegenüber der Perfusion mit undiluiertem Plasma nur noch leicht über eine 24stündige Perfusionszeit anstieg (5). Andere Autoren geben ebenfalls Dilution des Perfu-

sats an (44, 75). Unter Verwendung dieser Erfahrungen und unter Berücksichtigung der Sauerstofftransportkapazität wurde in den vorliegenden Versuchen das Plasma im Verhältnis 6:14 mit Ringerlösung verdünnt. Dadurch stellte sich ein Hämatokrit um 21 % ein, womit eine ausreichende Sauerstoffversorgung der Niere gesichert ist (24).

Um konstante Konzentrationsverhältnisse aufrecht zu erhalten, wurde alle 15 min der produzierte Urin quantitativ im Perfusat durch Ringerlösung ersetzt.

2. Besprechung der präparativen Elektrophorese und die Ergebnisse der Immunelektrophorese, Komplementlokalisation und der CH^1_{50} -Aktivität

Da die präparative Gewinnung der Fraktionen unter den Voraussetzungen des Elektrophoreseverfahrens erfolgt, bestehen die Globulin-Trennbilder jeweils nicht aus einem Protein sondern aus Gruppen von Eiweißkörpern, die die gleiche Beweglichkeit aufweisen. Eine Verunreinigung der einzelnen Fraktionen durch Nachbarfraktionen läßt sich, da elektrophoretisch nur Trennungen mit fließenden Grenzen erhalten werden, nicht vermeiden. Außerdem variiert diese Verunreinigung bei den sich entsprechenden Fraktionen, da die Zertrennung der Kartons nie genau an der gleichen Stelle zwischen zwei benachbarten Fraktionen erfolgt. Die Immunelektrophorese zeigt entsprechende Heterogenität der mittels der präparativen Elektrophorese gewonnenen Fraktionen, die damit nicht ganz der von TISELIUS getroffenen Einteilung der Serumproteine in Albumin, α_1 , α_2 , β und γ -Globulin entsprechen. Wohl konnten aber die Fraktionen jeweils einer dieser Proteingruppen zugeordnet werden. Es gilt also:

- a) die Fraktionen stellen ein Gemisch aus mehreren Proteingruppen dar;
- b) der Grad der Verunreinigung von seiten der Nachbarfraktionen variiert zwischen sich entsprechenden Fraktionen.

Die immunelektrophoretische Identifizierung des Hundeserums bzw. der Fraktionen wurde im Vergleich zum Humanserum durchgeführt. Entsprechend wurde auch die Benennung der Proteine nach deren Nomenklatur vorgenommen. Da bei Humanserum und bei Hundeserum die gleichen elektrophoretischen Wanderungsgeschwindigkeiten vorliegen, ist dieser Schritt zulässig. VAERMAN und HEREMANS (97) konnten beim Hund mit fünf monospezifischen Kaninchen-anti-Hunde-

Immunseren fünf verschiedene Immunglobuline nachweisen, die sie mit IgA, IgG₁, IgM, IgG_{2c} und IgG_{2a,b} bezeichneten. In dieser Arbeit wurde jedoch wie beim Humanserum nur zwischen den drei Immunglobulinen IgA, IgG und IgM, unterschieden. Sie wurden in der β - und γ -Globulinfraktion lokalisiert, ein Befund, der gut mit den Ergebnissen der Prüfung auf präformierte Antikörper korreliert, wo die höchsten Titer ebenfalls in den β - und γ -Globulinfraktionen gefunden wurden.

Mit der Komplementlokalisierung mit einem monospezifischen Anti-Hunde β_1 C Serum vom Kaninchen nach OUCHTERLONY konnte in der α_2 -, β - und γ -Globulinfraktion Komplement gefunden werden. Jedoch wurde mit der CH'₅₀ Methode keine hämolytische Komplementaktivität in diesen Fraktionen nachgewiesen. Für diesen Befund können zwei Ursachen in Frage kommen.

a) Durch die Elektrophorese sind die einzelnen Komplementstufen so getrennt worden, daß keine Induktion von einer Stufe auf ihre folgende mehr möglich ist,

b) Hitzedenaturierung des Komplements.

ad a): Die Trennung mußte mindestens zwischen C₃ und C₄₋₉ erfolgt sein, da schon die Stufen C₃ und C₄₋₉ zusammen eine Hämolyse erzeugen können. Nach Zusammenschütten aller Fraktionen einer Elektrophorese in einem Testversuch konnte ebenfalls keine Komplementaktivität registriert werden. Damit ist eine elektrophoretische Trennung der Komplementstufen zumindest nicht die alleinige Ursache dafür, daß keine CH'₅₀ Aktivität gefunden werden konnte.

ad b): Die Denaturierung kann durch Hitzeeinwirkung (56 °C Grenze) oder durch zu lange normotherme Lagerung eintreten, d. h. entweder genügt die Kühlung der Elektrophoreseanordnung nicht den Ansprüchen oder die Trennzeit ist zu lang.

3. Besprechung der Abstoßungskriterien: Perfusionsvolumen, Urinproduktion und Zunahme des Nierengewichtes; ihre Beeinflussung durch die künstliche Perfusion

Zweifellos entspricht die vorliegende Versuchsanordnung nicht physiologischen Bedingungen, denen ein extrakorporaler Anschluß des Spenderorgans an das Empfänger tier wesentlich näher kommt. Trotzdem liegen die Vorteile der künstlichen Perfusion in der vorliegenden Fragestellung auf der Hand: Extrarenale somatische

Interferenzen werden ausgeschaltet, und es ist die Möglichkeit gegeben das Perfusat beliebig zu variieren.

a) Das Perfusionsvolumen

Die wichtigste Meßgröße in den Untersuchungen war das Perfusionsvolumen ($\text{ml/g} \times \text{min}$), da es durch die Abstoßungsreaktion entscheidend beeinflusst wird. Eine Untersuchung des hyperakuten Abstoßungsmechanismus an der isoliert perfundierten Niere setzt daher voraus, daß entweder das Perfusionsvolumen durch die künstliche Perfusion nur wenig beeinträchtigt wird, oder daß durch Kontrollperfusionsen Bezugsbasen, die die methodisch bedingten Beeinträchtigungen des Perfusionsvolumens integrieren, geschaffen werden, auf die die immunologisch bedingten Änderungen des Perfusionsvolumens bezogen werden können.

Bevor die Kontrollversuche zur Beurteilung des Perfusionsvolumens als Abstoßungskriterium miteinander verglichen werden, sollen noch die Faktoren, die ätiologisch als Ursache für eine Beeinflussung des Perfusionsvolumens in Frage kommen, beschrieben werden.

Das Ausgangsperfusionsvolumen der Hauptperfusion wird beeinflusst durch:

1. intraoperative Irritierung der Organe, 2. anoxische und ischämische Reize und 3. hypotherme Reize.

ad 1.: Es zeigt sich, daß Nieren auf Berührung bzw. Quetschung empfindlich mit der Ausbildung von Stauungsbezirken reagieren. Während der Vorperfusionsphase waren diese Bezirke durch livide Flecken der Nierenoberfläche erkennbar, die sich erst nach längerer Vorperfusionszeit entfärbten. Mit zunehmender Operationsroutine wurden weniger livide verfärbte Flecken beobachtet.

ad 2.: Anoxie- und Ischämiezeiten wurden möglichst gering gehalten, da Nieren eine hohe vasokonstriktorische Ansprechbarkeit auf anoxische bzw. ischämische Reizung besitzen. Die erzielten Mittelwerte von 3,3 - 7,8 min bzw. 12,0 - 22,6 min bewegen sich in der Größenordnung der von RETIK et al. (83) angegebenen Werte.

ad 3.: Zu der durch hypoxische Reizung entstandenen Vasokonstriktion kann sich die Kältevasokonstriktion, die von K. MESSMER und M. SCHMIDT-MENDE beschrieben worden ist (66, 86), addieren.

Die Summe dieser Reize bestimmt zusammen mit dem durch den Renin-Angiotensinmechanismus bereits in situ eingestellten Gefäßtonus (siehe DII 1a) das Ausgangsperfusionsvolumen der Hauptperfusion.

Faktoren, die das Perfusionsvolumen während der Hauptperfusion beeinflussen: Bereits 1812 schlug le GALLOIS vor, Organe unbegrenzt durch künstliche Perfusion am Leben zu erhalten. Dieser Vorschlag wurde erst 1938 durch CARREL und LINDBERGH (16), die eine isolierte Kaninchenniere über mehrere Tage perfundierten, durchgeführt. CARREL und LINDBERGH vernachlässigten allerdings die Bewertung der Nierenfunktion. Bisher ist es noch nicht gelungen, die normale Funktion und Struktur über eine verlängerte Perfusionszeit an der isolierten Niere aufrecht zu erhalten (50).

F. R. WINTON (100) beobachtete, daß das Perfusionsvolumen isolierter Nieren weniger als 50 % des Normalwertes beträgt. Weiter stellte er fest, daß die Nierengefäße nicht auf eine Chloralhydratgabe reagieren. K. THURAU (94) vermutete daher, daß in der isoliert perfundierten Niere die Gefäßmuskulatur teilweise irreversible Kontrakturen entwickelt und nicht mehr auf physiologische Stimuli anspricht.

Das eigentliche Problem der künstlichen Nierenperfusion liegt in einer langsamen aber kontinuierlichen Zunahme des Gefäßwiderstandes und dem daraus resultierenden Druckanstieg bzw. im vorliegenden Modell dem daraus folgenden Abfall des Perfusionsvolumens (22, 23, 39, 58, 91, 92). Die Ätiologie dieses Druckanstiegs bzw. der Abnahme des Perfusionsvolumens ist vielschichtig: vermutlich ist die Abnahme des Perfusionsvolumens eine Folge aller im folgenden angeführten Ursachen: Thrombozytenaggregation (6, 8, 93): Es wird angenommen, daß durch die künstliche Perfusion Thrombozyten traumatisiert werden. Diese traumatisierten Thrombozyten führen zur Aggregation weiterer Blutplättchen. Als Ursachen für die Traumatisierung werden sowohl Substanzen, die durch die künstliche Perfusion freigesetzt werden, als auch mechanische Zerstörung der Zellen durch die Pumpe diskutiert.

Thromben aus Plasmalipoiden: BELZER fand in mikroskopischen Untersuchungen künstlich perfundierter Organe, daß die Gefäße durch Thromben aus Plasmalipoiden, die durch Denaturierung entstanden waren, verstopft wurden. Nach Vorbe-

handlung des Perfusats durch Gefrierpräzipitation traten bei BELZER keine Thromben mehr auf.

Vasoaktive Substanzen: Möglicherweise werden bei künstlicher Perfusion vasoaktive Substanzen wie z. B. Adenosin und seine Derivate (26, 37, 84), Serotonin und Histamin (93) durch Bluttraumatisierung im Pumpoxygenator liberiert.

Fehlen der Uretherperistaltik: Die isolierte Niere besitzt keine Uretherperistaltik. Das Fehlen der Peristaltik bedeutet eine Hemmung des Urinflusses. Es ist bekannt, daß der Urether unter normalen Umständen aktiv die terminalen Sammelröhren leert (14). LUCAS zeigte 1908 (57), daß die Elimination der Uretherperistaltik in-vivo zu einer Erhöhung des Drucks im Nierenbecken und zu einer daraus resultierenden Abnahme des renalen Blutflusses führt.

Nicht pulsatile Perfusion: Wie unter DIIb beschrieben führt nicht pulsatile Perfusion zu einer Erhöhung des Gefäßwiderstandes.

Der Beeinflussung durch die oben beschriebenen Faktoren unterliegen die allogenen und xenogenen Perfusionsversuche gleichermaßen. Zur Beurteilung der xenogenen Versuche müssen daher die Perfusionsvolumina auf zeitgleiche Volumina der allogenen Versuche bezogen werden. Im folgenden sollen die Kontrollversuche diskutiert werden (Abb. 5).

Allogene Perfusion mit RV: Der zeitliche Verlauf des Perfusionsvolumens bei allogener Perfusion mit RV zeigt alle nichtimmunologisch bedingten Änderungen des Perfusionsvolumens.

Nach Eintritt des Allohämoerfusats in die Nieren zu Beginn der Hauptperfusion wäre wie bei den übrigen Versuchsgruppen (die IIV Versuche ausgenommen) wegen der Restitution der Sauerstoffversorgung ein Anstieg des Perfusionsvolumens zu erwarten gewesen. Die im Gegenteil eintretende Abnahme des Perfusionsvolumens in den ersten 5 min beruht vermutlich auf einer reversiblen Vasokonstriktion der Nieren. Als vasokonstriktorische Substanz wird Epinephrin diskutiert, das sich im Rattenblut befindet. Großer Blutverlust ist der Hauptstimulus der Epinephrinssekretion aus dem Nebennierenmark (31, 40, 67, 88). DE MARIA et al. (25) konnten eine Konstriktion an einer Zone proximal zur ersten großen Bifurkation der Nierenarterie nach Epinephrininjektion am Hund beobachten. Die Nebennieren der

Blutspenderratten werden, wenn die Tiere nach Eröffnen des Abdomens vollständig aortal entblutet werden, zur Epinephrinsekretion angeregt. Die Blutentnahmen an den Hunden, durch die das Vollblut bzw. das Serum zur Herstellung der Fraktionen gewonnen wurde, bedeuten gemessen am gesamten Blutvolumen keinen schweren Blutverlust für die Hunde, so daß die Epinephrinsekretion nicht stimuliert wurde. Während der schnelle Abfall und Wiederanstieg des Perfusionsvolumens in den ersten 40 min der Hauptperfusion als eine für die RV Versuchsgruppe spezifische Reaktion angesehen werden muß, besitzt die langsame, kontinuierliche Abnahme des Perfusionsvolumens ab der 40. min. (die auch in der GHE Versuchsgruppe ähnlich beobachtet wird) auch die Gültigkeit für alle anderen Versuchsgruppen. Man kann diese Abnahme als durch die künstliche Perfusion bedingt bezeichnen. Als Durchblutungswert der Rattenniere in situ werden $9 \text{ ml/g} \times \text{min}$ angegeben (83). Bezogen auf diesen Wert betrug in der allogenen Versuchsgruppe das Perfusionsvolumen am Anfang der Hauptperfusion 56 %, nach 40 min Hauptperfusionszeit 50 % und nach 120 Hauptperfusionsminuten noch 31 % der physiologischen Nierendurchblutung. Diese Ergebnisse entsprechen den in der Literatur beschriebenen (100).

Xenogene Perfusion mit HV: Im zeitlichen Verlauf des Perfusionsvolumens bei xenogener Perfusion mit HV sind alle immunologisch und nicht immunologisch bedingten Änderungen des Perfusionsvolumens integriert. Wesentlich für die Beurteilung der Brauchbarkeit der Abnahme des Perfusionsvolumens als Abstoßungskriterium ist die Differenz zeitgleicher Perfusionsvolumina der allogenen und xenogenen Vollblutversuche. Abbildung 5 demonstriert, daß sofort nach Eintritt des xenogenen Blutes in das Organ das Perfusionsvolumen hyperakut abfällt und sich bereits nach 30minütiger Perfusionszeit signifikant von dem der allogenen Vollblutversuche unterscheidet. Damit ist die Eignung der Abnahme des Perfusionsvolumens als Abstoßungskriterium bewiesen.

Perfusion mit GHE: Über die Ursache der schnellen Zunahme des Perfusionsvolumens in den ersten 15 Hauptperfusionsminuten und der ebenso schnellen Abnahme während weiterer 10minütiger Perfusion können nur theoretische Angaben gemacht werden. Eine genaue Untersuchung dieses Phänomens geht über den Rahmen dieser Arbeit hinaus.

Die plötzliche Viskositätszunahme beim Übergang vom Vorperfusions- zum Hauptperfusionsmedium müßte sich eher in einer Abnahme des Perfusionsvolumens zu Beginn der Hauptperfusion manifestieren. Auch läßt der schnelle Wechsel zwischen Zunahme und Abnahme des Perfusionsvolumens mehr auf ablaufende Regulationsmechanismen schließen. Eine überschießende Durchblutung wegen der einsetzenden Erholung der Organe von Schädigungen durch Operation und Vorperfusion nach Restitution der Sauerstoffversorgung mit nachfolgender Gegenregulation der Nieren ist die einfachste Erklärung.

Einen Hinweis könnten die Beobachtungen von H. P. LEICHTWEISS und C. WEISS (52, 53), die Rattennieren mit sauerstoffgesättigter, isotoner, 3,5 %iger Hämacelllösung (Hämacell ist wie Gelifundol ein Gelatinepräparat) perfundierten, geben. Sie stellen fest, daß in 20 % aller Präparate aus unbekannten Gründen keine Autoregulation nachgewiesen werden konnte, trotz unveränderter Reaktion der Vasomotoren auf pharmakologische und elektrische Reizung. Möglicherweise haben die Nieren der GHE Versuchsgruppe ebenfalls kurzfristig ihre Autoregulationsfähigkeit verloren.

Die GHE Versuchsgruppe wurde durchgeführt, um die Wirkung der gegenüber dem Serum erhöhten Viskosität und des Kolloidosmotischen Drucks des Gelifundols auf das Perfusionsvolumen, die Urinproduktion (s. u.) und die Gewichtszunahme (s. u.) abzugrenzen. Nachdem sich von der 35. Perfusionsminute an ein ähnliches Verhalten des Perfusionsvolumens wie bei Perfusion mit RV einstellt, kann der Perfusionsverlauf ab diesem Zeitpunkt als gleichverhaltend bezeichnet werden.

GHE verhält sich immunologisch inert. Deshalb kann das Ergebnis der Perfusion mit GHE ebenfalls als Bezugsbasis für immunologisch bedingte Abnahmen des Perfusionsvolumens dienen.

b) Die Urinproduktion

Allgemein liegt bei künstlich perfundierten Nieren eine leichte hypo- oder isotone Polyurie vor (71, 72, 98). NIZET (71, 72) begründet die Wasserdurese durch das in der isolierten Niere fehlende antidiuretische Hormon. Zugabe von antidiuretischem Hormon verhinderte bei ihm vorübergehend die Wasserdurese. Eine Urinkonzentrierung wurde aber nicht erhalten. NIZET vermutet, daß u. a. die Ausbil-

dung von Ödemen während der künstlichen Perfusion die fortschreitende Verschlechterung der Konzentrierungsprozesse bewirkt.

Zu den durch die künstliche Perfusion bedingten Funktionsverlusten der Niere addieren sich die immunologisch bedingten Störungen. Auf Grund der beobachteten pathologisch-histologischen Nierenveränderungen ist als Ursache der Abnahme der Konzentrierungsfähigkeit ein fortschreitender Funktionsverlust der vasa recta und der Henle'schen Schleifen durchaus denkbar. Eine Umverteilung der Durchblutung zugunsten medullärer Kompartimente und dem daraus folgenden Abbau des osmotischen Gradienten im Nierenmark wie RETIK et al. bei der allogenen Abstoßungsreaktion beobachteten, muß ebenfalls diskutiert werden.

Die Ergebnisse der Kontrollgruppe zeigen bei allogener Perfusion mit Rattenvollblut die in der Literatur beschriebene isotone Polyurie. Die Urinproduktion sinkt synchron mit dem Perfusionsvolumen ab. Bei xenogener Perfusion mit Hundevollblut sinkt die Urinproduktion ebenso wie das Perfusionsvolumen ab (US osmol = 0,85 am Perfusionsende). Die Gelifundolversuche weisen eine gegenüber der allogenen Perfusion noch größere Polyurie auf. Trotz herabgesetztem Perfusionsvolumen nimmt die pro 15 Min. produzierte Urinmenge bis zum Perfusionsende nur unwesentlich ab. Diese erhöhte Diurese muß im Sinne einer osmotischen Diurese gedeutet werden, die sich auf die durch die Isolierung des Organs entstehende Diurese aufpropft. Sie kommt durch die wasserretinierende Wirkung der filtrierten Kolloidmoleküle in proximalen Tubulusabschnitten zustande (98).

Nach den Ergebnissen der Kontrollgruppe können Urinproduktion und US osmol in dieser Versuchsanordnung nicht als geeignete Kriterien zur Beurteilung der Abstoßungsreaktion herangezogen werden, weil nicht zwischen immunologisch und nicht-immunologisch bedingten Veränderungen differenziert werden kann. So wird z. B. die in der Literatur häufig erwähnte polyurische Phase der Abstoßungsreaktion durch die Einflüsse der künstlichen Perfusion und die Wahl von Gelifundol als Serums substituenz überdeckt.

c) Das Nierengewicht

Als eines der typischen xenogenen Abstoßungszeichen wird von vielen Autoren die Zunahme des Organgewichts angegeben. In unseren Versuchen konnte keine Korre-

lation zwischen dem Verhalten der Perfusionsvolumina und dem Verhalten der Nierengewichte festgestellt werden. So unterscheiden sich z. B. zwar die Perfusionsvolumina der α_2 Z- von der AlE-Versuchsgruppe nach 120minütiger Hauptperfusion signifikant, zwischen den Gewichtszunahmen beider Versuchsgruppen besteht aber praktisch keine Differenz. Der Grund ist in unserem Versuchsmodell zu suchen: Es addieren sich die Gewichtszunahmen, die von der immunologischen Reaktion herühren, und die durch die künstliche Perfusion entstehen.

Eine Gewichtszunahme der Niere bei künstlicher Perfusion wird von allen Autoren übereinstimmend berichtet. A. NIZET et al. beobachteten nach 3stündiger pulsatilem Perfusion von Hundenieren mit undiluiertem, autologem Vollblut eine Zunahme des Nierengewichts von 20 % (72). Als Ursachen der Gewichtszunahme bei künstlicher Perfusion dürften mehrere Faktoren in Frage kommen. So wurde von H. BAKER (4) und D. M. ENERSON (27) eine Korrelation zwischen Ischämie und Gewichtszunahme der Organe beobachtet. Diese Autoren vermuten einen Ausfall der Na-Pumpen durch die Hypoxie und in der Folge davon einen Übertritt von Na und H_2O vom Extra- in den Intrazellulärraum. Bei künstlicher Perfusion mit genügender Sauerstoffversorgung kann eventuell eine partielle Entmischung des Serums mit Ausbildung eines onkotischen Druckgradienten und daraus resultierendem Flüssigkeitsabfluß aus dem Gefäßsystem in das Gewebe als Faktor diskutiert werden.

K. J. PAQUET et al. (75), stellten fest, daß die Gewichtszunahme bei nichtpulsatiler Perfusion gegenüber der pulsatilen Perfusion noch erhöht ist. Wird mit isoton diluiertem Serum perfundiert, kommt es sicherlich wegen der Verringerung des onkotischen Drucks im Perfusat ebenfalls zur vermehrten Gewichtszunahme. Versuche mit dem vorliegenden Versuchsmodell zeigten nach 15minütiger Perfusion mit Ringerlösung bereits eine Gewichtszunahme von ca. 30 % (1).

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die Gewichtszunahme der Organe bei künstlicher Perfusion eine Funktion der Perfusionszeit der Art des Perfusats, der Ischämie und der Pumpmechanik (pulsatil, nicht pulsatil) darstellt.

Ein bestimmtes Maximum der Gewichtszunahme kann wahrscheinlich wegen der sich ausbildenden Gegenspannung der Nierenkapsel nicht überschritten werden. Es kommt jedoch zur Maskierung der durch die immunologische Abstoßungsreaktion hervorgerufenen Gewichtszunahme. Damit scheidet die Gewichtszunahme als zu-

verlässiges Abstoßungskriterium im vorliegenden Modell aus.

Die zusammenfassende Beurteilung der Abstoßungskriterien ergibt, daß sie in vivo für typisch angesehenen Änderungen der Urinproduktion (polyurische Abstoßungsphase) und des Nierengewichtes als Ausdruck der Abstoßungsreaktion in unserem Versuchsmodell versagen. Die methodisch bedingte Beeinflussung der Urinproduktion und des Nierengewichtes maskieren Veränderungen, die durch eine Abstoßungsreaktion hervorgerufen werden können. Deshalb kann z. Z. in diesem Modell nur die Änderung des Perfusionsvolumens als alleiniges Abstoßungskriterium herangezogen werden. Die methodisch bedingte Beeinflussung des Perfusionsvolumens ist sowohl bei allogen als auch bei xenogen perfundierten Nieren gleich. Sie hält sich in solchen Grenzen, daß eine genaue Differenzierung abstoßungsbedingter Abnahmen des Perfusionsvolumens möglich ist.

III. Diskussion der Ergebnisse

1. Das Verhalten der Rattennieren bei Perfusion mit verschiedenen Serumfraktionen vom Hund mit und ohne periphere Blutzellen

In dieser Arbeit sollte geprüft werden, ob die HXAR nur von der Präsenz präformierter Antikörper im Hundeserum abhängig ist, oder ob auch andere Serumfaktoren eine Rolle spielen. Das Mitwirken der peripheren Blutzellen im Abstoßungs geschehen sollte dabei mit untersucht werden. Den Untersuchungen lag folgende Überlegung zugrunde:

Ein an der HXAR mitbeteiligter Faktor des Vollserums müßte nach Auftrennung des Vollserums in seine Serumfraktionen in einer dieser Fraktionen ebenfalls zu finden sein. Eine Aussage über die Mitbeteiligung an der HXAR kann getroffen werden, wenn bei Perfusion mit einer Serumfraktion Abstoßungssymptome, wie sie bei Perfusion mit Hundevollblut auftreten, wiedergefunden werden.

Bei Perfusion mit Serumfraktionen in Kombination mit peripheren Blutzellen (Erythrozyten, Leukozyten, Thrombozyten) fallen die Perfusionsvolumina in den α_2 -, β - und γ -Globulin-Versuchen im Vergleich zu den allogen Kontrollen si-

gnifikant ab. Dazu muß bemerkt werden, daß in der α_2 -Globulinfraktion mit unseren Methoden keine präformierten Antikörper nachgewiesen werden konnten. Weiter zeigte sich eine unterschiedliche Abhängigkeit der Serumfraktionen von der Anwesenheit von Leukozyten und Thrombozyten hinsichtlich der Abnahme des Perfusionsvolumens:

Perfusion mit den α_2 -Globulinfraktionen kombiniert mit nur Erythrozyten ergab weiterhin einen signifikanten Abfall des Perfusionsvolumens, der in den Versuchen mit β - und γ -Globulinfraktionen und Erythrozyten nicht mehr beobachtet werden konnte.

Im Vergleich zum Hundevollblut zeigen die Serumfraktionen bei Xenohämoperfusion längere Perfusionszeiten und höhere Perfusionsvolumina. Unter Verwendung des vorliegenden Modells beobachtete ALDENHOFF (1) bei Perfusion mit hitzedekomplementiertem Hundeserum in Kombination mit Erythro-, Leuko- und Thrombozyten eine Verzögerung der Abstoßungsreaktion. MOZES et al. (68) berichten ebenso bei Perfusion mit hitzedekomplementiertem Hundeserum im Schweine-Hund-System. Es liegt deshalb nahe, einen Zusammenhang zwischen der in den durch präparative Elektrophorese erhaltenen Serumfraktionen fehlenden Komplementaktivität und den verzögert einsetzenden Abstoßungsreaktionen der Serumfraktionsversuche zu sehen.

In zukünftigen Untersuchungen könnte durch Hinzufügen von aktivem Hundekomplement zu den Serumfraktionen die Komplementabhängigkeit der Abstoßungsreaktion weiter analysiert werden. Durch diese Versuchsanordnung könnte insbesondere geprüft werden, von welcher Fraktion (α_2 -, β -, γ -Globulinfraktion) die Abstoßungsaktivität durch aktives Komplement gesteigert werden kann. Außerdem könnte ein etwaiger Abstoßungsfaktor, der nur unter Komplementverbrauch eine Abstoßung bewirken kann, nachgewiesen werden. Mit unseren bisherigen Versuchen kann die Existenz eines solchen Abstoßungsfaktors nicht ausgeschlossen werden.

Der steile Anstieg des Perfusionsvolumens zu Beginn der Hauptperfusion bei den meisten Versuchsgruppen mit Serumfraktionen, besonders aber bei der AIE-Versuchsgruppe, hat Ähnlichkeit mit dem Anstieg des Perfusionsvolumens der GHE-Versuchsgruppe. Da die durch präparative Elektrophorese gewonnenen Serum-

fraktionen mit Gelifundol substituiert wurden, liegt die Vermutung nahe, daß diesem initialen Anstieg des Perfusionsvolumens dieselbe Ursache wie dem Anstieg des Perfusionsvolumens der GHE-Versuchsgruppe zugrunde liegt. Die für das hohe Perfusionsvolumen der AlE-Versuchsgruppe relativ geringe Urinproduktion läßt vermuten, daß durch die schnelle Zunahme des Perfusionsvolumens in der initialen Phase der Hauptperfusion arterio-venöse Kurzschlüsse geöffnet wurden.

Die histologischen Veränderungen und das Perfusionsverhalten der xenoperfundierten Rattennieren differieren teilweise. Besonders die unterschiedlichen Befunde innerhalb einiger Versuchsgruppen (α_1Z , α_2Z , βZ) erschweren die Beurteilung (siehe Tab. 7, Abb. 6 - 10).

BOHLE, EDEL und PICHELMEIER (7) beobachteten bei Nierenallotransplantation in Funktionszylindern, die während der akuten Abstoßungsphase entnommen wurden, histologische Veränderungen von ebenfalls stark variierendem Ausmaß. Es erhebt sich daher die Frage, ob das Ausmaß der mit den konventionellen, histologischen Methoden erkennbaren Veränderungen für die Störung der Nierendurchblutung relevant ist. Primäre, histologisch nicht faßbare Abstoßungsreaktionen in Form von z. B. Gefäßspasmen, die sekundär entstehenden Infiltraten vorausgehen, sind denkbar. Auf unser Modell übertragen würde das bedeuten, daß es bei einigen Versuchen der α_2Z - und βZ -Versuchsgruppen zur Ausbildung sekundärer Veränderungen kam. Bei anderen Versuchen dieser Gruppen wäre es dagegen nur zur Ausbildung der primären Abstoßungsreaktion (z. B. Gefäßspasmen) innerhalb der Perfusionszeit gekommen.

Diese Erklärung wird allerdings den Ergebnissen der α_1Z -Versuchsgruppe nicht ganz gerecht: Obwohl keine Niere dieser Versuchsgruppe bei der Xenoperfusion eine Abstoßungstendenz zeigte, ergaben die histologischen Veränderungen Abstoßungsgrad 0 - 2. Aufgrund dieses Befundes könnte ein xenogener Faktor diskutiert werden, der unabhängig von dem das Nierenperfusionsvolumen verändernden xenogenen Mechanismus histologische Veränderungen hervorruft. Eine endgültige Klärung, inwieweit die histologischen Veränderungen mit den Veränderungen des Nierenperfusionsvolumens korrelieren oder nicht korrelieren, bedarf weiterer gezielter Untersuchungen. Nach unseren Ergebnissen kann nur mit einiger Sicherheit gesagt werden, daß die histologischen Veränderungen nur bei Perfusion mit

Serumfraktionen in Kombination mit den peripheren Blutzellen hervorgerufen werden (siehe Tab. 7).

2. Der Mechanismus der xenogenen, hyperakuten Abstoßungsreaktion

Unter Berücksichtigung der Beobachtung, daß die "Abstoßungsaktivität" der Antikörper-haltigen β - und γ -Globulinfraktionen, sowie der Antikörper-freien α_2 -Globulinfraktionen eine unterschiedliche Abhängigkeit von der Präsenz der peripheren Blutzellen (Leukozyten, Thrombozyten) hat, können zwei voneinander unabhängige Reaktionsmechanismen in der ersten Phase der HXAR diskutiert werden.

1. Ein Reaktionsmechanismus, der über die Interaktion zwischen nachweisbaren präformierten humoralen Antikörpern und Empfängerzellen abläuft. Eine Abnahme der Titer präformierter Antikörper wurde in unserem Modell bei der Abstoßungsreaktion gemessen (1).
2. Ein Reaktionsmechanismus, der möglicherweise auf dem Angriff eines nicht-immunologischen humoralen Faktors auf das xenogene Organ basiert. Dieser Prozeß ist offenbar von der Mitbeteiligung von Zellen weniger abhängig.

Sollte diese Beobachtung eine Gültigkeit über unser Modell hinaus besitzen, müßte die Postulierung der humoralen präformierten Antikörper als Grundlage des hyperakuten, xenogenen Abstoßungsmechanismus eingeschränkt werden.

Hinsichtlich der Reaktionsabläufe der beiden Systeme scheinen prinzipielle Unterschiede zu bestehen: Während beim System mit präformierten Antikörpern die Interaktion von Leukozyten und Thrombozyten erforderlich ist, konnte bei dem System ohne nachweisbare präformierte Antikörper diesbezüglich keine Abhängigkeit gefunden werden.

Der Einwand, bei letzterem könnten ebenfalls präformierte Antikörper vorliegen, die sich jedoch mit den verwandten Nachweismethoden nicht feststellen ließen, kann nicht völlig widerlegt werden. Dagegen spricht jedoch, daß es uns bisher nicht gelungen ist, eine wesentliche Verzögerung der hyperakuten Abstoßungsreaktion durch vorhergehendes Absorbieren der präformierten humoralen Antikörper im Hundeserum mit verschiedenen Zell- und Gewebearten von Ratten zu erreichen (85).

Unter dem Aspekt des Systems ohne nachgewiesene Antikörper verdient das von CALNE (12) zur Diskussion gestellte Modell der möglichen Bedeutung inadäquater Enzymsysteme im Spender-Empfängersystem, wonach die xenogene Abstoßung auf einer biochemischen Inkompatibilität im Stoffwechsel beruhen könnte, erhöhte Aufmerksamkeit. Auch die Möglichkeit, daß in diesem System durch Immunadhärenz einiger Komplementkomponenten über einen Mediator eine vasoaktive Substanz aus dem Serum liberiert wird, kann ebenfalls in Erwägung gezogen werden.

In Versuchen mit Schweinenieren beobachteten B. S. LINN et al.(55) sowohl bei Perfusion mit Hundevollblut, als auch mit Hundeserum in Kombination mit Hunderythrozyten eine vergleichbare Abstoßungsreaktion, woraus gefolgert wurde, daß Leukozyten und Thrombozyten nur eine sekundäre Rolle im hyperakuten Abstoßungsmechanismus spielen. Sollte die Differenzierung zwischen zwei Abstoßungsmechanismen eine über unser Versuchsmodell hinausreichende Gültigkeit besitzen, müßte diese Folgerung korrigiert werden.

Auf die Bedeutung der Thrombozytenaggregate wird in der Literatur häufig hingewiesen (17, 19, 56, 60). Während beim Reaktionsablauf des Abstoßungssystems ohne nachweisbare präformierte Antikörper die Ausbildung von Thrombozytenthromben wahrscheinlich auf dem Boden eines Vasospasmus sekundär entsteht, kommt es im Reaktionsablauf des Abstoßungssystems mit präformierten Antikörpern vermutlich primär zur Bildung von Thrombozytenthromben. MOVAT et al. (68) bieten durch ein In-vitro Experiment, in dem sie zeigen konnten, daß die Bildung von Thrombozytenaggregaten durch Freisetzung von Adenosindiphosphat während der thrombozytären Phagozytose von Antigen-Antikörperkomplexen induziert wird, eine plausible Erklärung, wie die Thrombozytenaggregation induziert werden könnte.

H. YAMASAKI (101) beobachtete in In-vitro Versuchen Thrombozytenaggregation bei Senkung des pH unter 6,82. Die Überlegung, daß es im Verlauf der Abstoßungsreaktion durch Freisetzung saurer Metabolite zur kurzfristigen pH-Senkung und damit zur Thrombozytenaggregation kommen könnte, bietet sich ebenfalls als Erklärung für die Bildung von Thrombozytenthromben an.

Im Zusammenhang mit den Thrombozytenaggregaten wurden von J. ALDENHOFF (1) Untersuchungen im Ratten-Hundsystem durchgeführt, in denen der 10 000 g-Überstand ultraschallzerstörter Thrombozyten nach 15minütiger Hauptperfusion

dem Perfusat hinzugefügt wurde. Die resultierende rasche Abnahme des Perfusionsvolumens läßt die Spekulation zu, daß möglicherweise durch die Zerstörung der Thrombozyten durch Ultraschall bzw. Aggregation eine vasoaktive Substanz freigesetzt wird. Die hohe Geschwindigkeit der hyperakuten xenogenen Abstoßungsreaktion läßt vasokonstringierende Substanzen als Reaktionsmechanismus denkbar erscheinen.

Auf die Beobachtung, daß Komplement in xenogen perfundierten Nieren gespeichert wird, wurde in zahlreichen Arbeiten hingewiesen (17, 18, 19, 30, 33, 65, 76, 89). Immunhistologisch konnte in xenogen perfundierten Nieren das Komplement in den Glomerula und intertubulären Kapillaren am Endothel und in tieferen Wandschichten nachgewiesen werden (78). Jedoch sind auch Fälle bekannt, in denen eine Komplementtiterabnahme nach Xenoperfusion im Empfänger Serum ausblieb. In welcher Phase der Abstoßungsreaktion das Komplement hauptsächlich eine Rolle spielt, war bisher unklar. Unsere Ergebnisse in Verbindung mit den Beobachtungen von J. ALDENHOFF (1) und M. F. MOZES et al. (69) erlauben die Annahme, daß das Komplement seine größte Bedeutung in der initialen Phase der Abstoßungsreaktion, wahrscheinlich durch Teilnahme an komplementverbrauchenden, cytotoxischen Prozessen besitzt. Da durch Hitzedekomplementierung bzw. Trennung der Komplementkomponenten durch Elektrophorese die Immunadhärenz von Komplementkomponenten und somit die chemotaktische Wirkung des Komplements auf z. B. Leukozyten oder Thrombozyten nicht ausgeschlossen werden kann, dürfte eine gezielte Ausschaltung weiterer Komplementkomponenten durch z. B. Kobragift wertvolle Ergebnisse bringen (35, 36).

Unsere Ergebnisse können nicht ohne weiteres auf das Phänomen der xenogenen, hyperakuten Abstoßung bei in-vivo Xenotransplantation übertragen werden, solange nicht unspezifische Faktoren wie z. B. denaturierte Serumproteine mit Sicherheit ausgeschlossen werden können. Wegen der bisher geringen Anzahl von Stichproben in den einzelnen Versuchsgruppen dürfen die Folgerungen nur mit Vorbehalt beurteilt werden.

Nicht auszuschließen ist derzeit auch die Möglichkeit, daß der 2. Reaktionsmechanismus durch einen spezifischen immunologischen Faktor (Antikörper) provoziert ist, der in der α_2 -Globulinfraktion wandert und der mit den Routinetests nicht nach-

gewiesen werden kann.

Die Ergebnisse dieser Arbeit weisen aber auf die Berechtigung der Vorstellung hin, daß mehrere voneinander unabhängige, parallel ablaufende Systeme, wie von W. LAND (45) in einem Schema über die derzeitigen Vorstellungen über die Mechanismen der hyperakuten xenogenen Abstoßungsreaktion gefordert wurde, für die hyperakute Abstoßungsreaktion verantwortlich sind.

E) ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Arbeit sollten die für die HXAR verantwortlichen Serumfaktoren des Empfängertieres - in Interaktion mit Zellen - untersucht und näher definiert werden, wobei insbesondere Wert auf Prüfung verschiedener Serumfraktionen mit bzw. ohne Gehalt an nachweisbaren präformierten natürlichen Antikörpern gelegt wurde.

Xenohämoperfusion: Rattennieren wurden isoliert mit Hunde-Vollblut bzw. -Serumfraktionen und verschiedene periphere Blutzellen in vitro perfundiert. Als Abstoßungskriterien wurde das Verhalten der Perfusionsvolumina und die Dauer der funktionellen Perfusion herangezogen.

Perfusat: Serumfraktionen vom Hund: Aus Nativserum wurde mittels Kartonelektrophorese Albumin-, α_1 , α_2 -, β - und γ -Globulinfraktionen isoliert. Zellen vom Hund: Aus frischem EDTA-Blut wurde mittels Diff.-Zentrifugation Erythrozyten, Leukozyten und Thrombozyten isoliert. Antikörper in den Fraktionen wurden mit den Hämaggl.-Leukaggl.-, passive Hämaggl.-Tests und der Komplement-Bindungs-Reaktion bestimmt.

1. Im Vergleich zum Hundevollblut zeigen die Serumfraktionen bei Xenohämoperfusion längere Perfusionszeiten und höhere Perfusionsvolumina.
2. In den α_2 -Globulinfraktionen konnten keine präformierten AK gefunden werden. Trotzdem ergab die Perfusion mit der α_2 -Globulinfraktion sowohl in Kombination mit Zellen als auch mit Erythrozyten Symptome einer Abstoßungsreaktion.
3. Perfusion mit antikörperhaltigen Serumfraktionen zeigte nur bei gleichzeitiger Anwesenheit von Erythro-, Leuko- und Thrombozyten Symptome einer Abstoßungsreaktion.

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, daß bei der HXAR im wesentlichen zwei unterschiedliche Wirkungsprinzipien eine Rolle spielen:

1. die Wirkung humoraler, natürlicher Antikörper (in der β - und γ -Globulinfraktion lokalisiert) im Zusammenwirken mit peripheren Blutzellen;
2. die Wirkung eines nichtimmunologischen humoralen Faktors (in der α_2 -Globulinfraktion lokalisiert), der eine Schädigung des xenogenen Organs offenbar in

geringerer Abhängigkeit von der sekundären Mitbeteiligung von Zellen hervorruft; an die Wirkung eines fremdstrukturierten Proteins, z. B. Enzyms, wäre bei diesem noch nicht näher definierten Serumfaktor zu denken.

F) LITERATURVERZEICHNIS

- 1 ALDENHOFF, J.: Inaug. Diss.
München (in Druck)
- 2 ALLERDYCE, D.B.,
YOSHIDA, S.H.,
ASHMORE, P.G.: The importance of microembolism in the
pathogenesis of organ dysfunction caused
by prolonged use of the pump oxygenator
J. Thor. Cardiv. Surg. 52, 706 (1966)
- 3 AVRAMONICI, A.: Les transplantations de rein
Lyon Chir. 21, 734 (1956)
- 4 BAKER, H.: Ischaemic necrosis in the rat liver
J. Path. Bact. 71, 135 (1956)
- 5 BELZER, F.O.,
ASHBY, B.S.,
MAY, R.E.,
DUNPHY, J.E.: Isolated perfusion of whole organs
in: Organ Perfusion and Preservation
edited by: J. C. Norman, Appleton-Century-
Crofts, New York, S. 3 (1963)
- 6 BELZER, F.O.,
PARK, H.Y.,
VETTO, R.M.: Factors influencing renal blood flow during
isolated perfusion
Surg. Forum 15, 222 (1964)
- 7 BOHLE, A.,
EDEL, H.,
PICHLMAIER, H.: Über die Beziehungen von Struktur und Funk-
tion bei der akuten, perakuten und chroni-
schen Abstoßung von Nierentransplantaten
in: Organtransplantation - Immunologie und
Klinik
Hrsg: A. Heymer, D. Ricken, Stuttgart,
New York (Schattauer Verlag) S. 89 (1969)
- 8 BORN, G. V. R.,
CROSS, M. J.: Effects of inorganic ions and of blood plate-
lets by adenosine diphosphate
J. Physiol. (London) 170, 397 (1964)
- 9 BOYDEN, S. V.: The adsorption of proteins on erythrocytes
treated with tannic acid and subsequent hemag-
glutination by antiprotein sera
J. exp. Med. 93, 107 (1951)
- 10 BRALEY, S.: The silicones as tools in biological enginee-
ring
Med. Electron Biol. Eng. 3, 127 (1965)
- 11 BUCKLES, R.G.,
MERILL, E.W.,
GILLIAUD, E.R.: An analysis of oxygen absorption in a tubular
membrane oxygenator
Al. Ch. E. J. 14, 703 (1968)

- 12 CALNE, R. Y. : Diskussionsbemerkungen
Kitzbühel 1970
- 13 CAMPBELL, H. H. ,
GARVEY, J. S. ,
CREMER, N. E. ,
SUSSDORF, D. H. : Methods in immunology
W. A. Benjamin, New York and Amsterdam
(1964)
- 14 CAMPBELL, M. E. : Principales of urology
Philadelphia, W. B. Saunders Co, 96 (1957)
- 15 CARREL, A. : Doppelte Nephrektomie und Reimplantation
einer Niere
Langenbecks Arch. Klin. Chir. 88, 379
(1909)
- 16 CARREL, A. ,
LINDBERGH, C. A. : The culture of organs
New York, Hoeber (1938)
- 17 CLARK, D. S.,
GEWURZ, H. ,
GOOD, R. A. ,
VARCO, R. L. : Complement fixation during heterograft
rejection
Surg. Forum 15, 144 (1966)
- 18 CLARK, D. S. ,
GEWURZ, H. ,
VARCO, R. L. : Mechanisms in immediate xenogeneic graft
rejection
Fed. Proc. 25, 296 (1966)
- 19 CLARK, D. S. ,
GEWURZ, H. ,
VARCO, R. L. : Serologic studies on accelerated graft re-
jection
Fed. Proc. 25, 296 (1966)
- 20 CLARK, D. S. ,
FOKER, J. E. ,
GEWURZ, H. ,
GOOD, R. A. ,
VARCO, R. L. : Effector mechanisms in renal graft rejection
Surgery 62, 770 (1967)
- 21 CONSDEN, R. ,
GORDON, A. H. ,
MARTIN, A. J. P. : Localisation of protein fractions
Biochem. J. 40, 33 (1946)
- 76 22 COUCH, N. P. ,
CASSIE, G. F. ,
MURRAY, J. E. : Survival of the dog kidney perfused in a pump-
oxygenator system
Surgery 44, 666 (1958)

- 23 CYPERS, Y.,
NIZET, A.:
Technique pour la perfusion de reins de chien
avec du sang heparine
Arch. Int. Physiol. Biochem. 72, 245 (1964)
- 24 DEETJEN, P.:
Normal and critical oxygen supply of the
kidney
in: Oxygen Transport in Blood and Tissue
edited by: D. W. Lübers; U. C. Luft; G. Thews;
E. Witzleb
Thieme Verlag, Stuttgart (1968)
- 25 De MARIA, W. J. A.,
KRUEGER, R. P.,
HAWKINS, D. M.,
SANDERS, A. P.,
BAYLIN, G. P.:
Renal artery response to epinephrine
Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 114, 588 (1963)
- 26 De WALL, R. A.,
LONG, D. M.,
GEMILL, S. H.,
LILLEHEI, C. W.:
Certain blood changes in patients undergoing
extracorporeal circulation
J. thorac. Surg. 37, 325 (1959)
- 27 ENERSON, D. M.:
Cellular swelling: I. Hypothermia, graded
hypoxia and the osmotic effects of low
molecular weight dextran on isolated tissues
Am. Surg. 163, 169 (1966)
- 28 FATEH-MOGHADAM, A.,
LAMERZ, R.:
Immunelektrophorese Grundlagen-Methodik-
Bewertung
Das med. Laboratorium XXII, 10, 219 (1969)
- 29 FAVOUR, C. B.,
MURRAY, Y. E.,
WEMYSS, C. T.,
COLODON, A.,
MILLER, B. F.:
Serum complement levels in dogs undergoing
kidney homotransplantation
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 83, 352 (1953)
- 30 FIEDLER, L.:
Inaug. Diss.
München (1971)
- 31 PRAZIER, H. S.:
Renal regulation of sodium balance
New England J. Med. 279, 868 (1968)
- 32 GALLETTI, P. M.,
SNIDER, M. T.,
DANIELE, S. A.:
Gas permeability of plastic membranes for
artificial lungs
Med. Res. Eng. 5 (2), 20 (1966)

- 33 GEWURZ, H.,
FINSTAD, J.,
MUSCHEL, L.H.,
GOOD, R.A.:
in: Phylogeny of Florida Press, Gainsvill,
Florida (1966)
- 34 GEWURZ, H.,
SOUTH, M.A.,
GOOD, R.A.:
The ontogeny of complement activity. Complement titers in the developing chick embryo during graft-versus-host reactions
Proc. soc. Exp. Biol. Med. 123, 718 (1966)
- 35 HENSON, P.M.:
Mechanisms of release of constituents from rabbit platelets by antigen-antibody complexes and complement
I. Lytic and nonlytic reactions
J. Immun. 105, 476 (1970)
- 36 HENSON, P.M.:
Mechanisms of release of constituents from rabbit platelets by antigen-antibody complexes and complement
II. Interaction of platelets with neutrophils
J. Immun. 105, 490 (1970)
- 37 HOLLENBERG, M.,
PRUETT, R.,
THAL, A.:
Vasoactiv substances liberated by prolonged bubble oxygenation
J. Thor. Cardio. Surg. 45, 402 (1963)
- 38 HOPF, U.,
FATEH-MOGHADAM, A.,
LAND, W.,
BRENDDEL, W.:
Serologische Untersuchungen an Patienten unter Behandlung mit xenogenem Antilymphocytoglobulin
Klin. Wschr. 48, 906 (1970)
- 39 HUMPHRIES, A.L.,
RUSSELL, R.,
GREGORY, J.,
CARTER, R.H.,
MOREBY, W.:
Three day kidney preservation: Perfusion of kidneys with hypothermic, diluted blood or plasma
Surgery 63, 646 (1968)
- 40 HUTCHIN, P.:
Metabolic response to surgery in relation to caloric, fluid and electrolyte intake
Year Book Med. Publishers, Inc., Chicago (1971)
- 41 JABOULAY, M.:
Greffes de reins au pli du coude par suture arterielles et veineuses
Lyon Med. 107, 575 (1906)

- 42 KABAT, E. A.,
MAYER, M. M.: Complement and complement fixation
Exp. Immunochemistry 133 (1967)
Publisher: C. Thomas
- 43 KNEDEL, M.,
SPERL, F.: Über ein präparatives Elektrophorese Verfahren mit Kartonpapier als Trägermaterial
Blut V, 2, 65 (1959)
- 44 KRETINA, J.,
GUAILANI, A.: A versatile method for the in vitro perfusion of isolated organs of rats and mice with particular reference to liver
Riccardo Passoni Apparecchiature Scientifiche Milano
- 45 LAND, W.: Möglichkeiten und Grenzen der xenogenen Organtransplantation
Der Chirurg 42, 172 (1971)
- 46 LAND, W.,
HAMMER, C.,
BRENDDEL, W.: Experimentelle Xenotransplantation in entfernt stammesverwandten Speciessystemen II. Beeinflussung der hyperakuten Abstoßungsreaktion durch Vorbehandlung von Hunden (Empfänger) mit löslichen Lebergewebsantigenen vom Schwein (Spender)
Klin. Wschr.
- 47 LAND, W.,
MENDLER, N.,
LIEBE von, S.,
PIELSTICKER, K.,
MESSMER, K.: Experimentelle Xenotransplantation in entfernt stammesverwandten Speciessystemen I. In-vitro Hämoperfusion isolierter Nieren als Modell zur Untersuchung von Abstoßungsmechanismen xenogener Organtransplantate
Klin. Wschr. 49, 164 (1971)
- 48 LAND, W.,
SCHILLING, A.,
ALDENHOFF, J.,
LAMERZ, R.,
PIELSTICKER, K.,
MENDLER, N.,
BRENDDEL, W.: In vitro studies on the mechanism of hyperacute xenograft rejection
Transpl. Proc. Vol III, No 1, 888 (1971)
- 49 LAURENCE, E. E.,
FRIEDLER, R. M.: Changes in renal blood flow and possibly the natriuresis accompanying saline loading in the dog
J. of clinical investigation 44, No 6, 929 (1965)

- 50 LAVENDER, A. R.,
FORLAND, M.,
RAMS, J. J.,
THOMSON, J. S.,
RUSSE, H. P.,
SPARGO, B. H.:
Laboratory and clinical studies in perfusion
of the isolated kidney
in: Organ Perfusion and Preservation
edited by: J. C. Norman, Appleton-Century-
Crofts, New York, S. 339 (1968)
- 51 LEE, W. H.,
KRUMHAAR, D.,
FONKALSRUD, E. W.,
SCHEIDE, O. A.,
MALONEY, J. V.:
Denaturation of plasma proteins as a cause of
morbidity and death after intracardiac
operations
Surgery 50, 29 (1961)
- 52 LEICHTWEISS, H. P.,
SCHRÖDER, H.,
WEISS, C.:
Die Beziehung zwischen Perfusionsdruck und
Perfusionsstromstärke an der mit Parafinöl
perfundierten isolierten Rattenniere
Pflügers Archiv 293, 303 (1967)
- 53 LEICHTWEISS, H. P.,
WEISS, C.:
Untersuchungen über den Mechanismus der
Autoregulation der Nierendurchblutung
Bruns' Beiträge zur klinischen Chirurgie
214, No. 1, 100 (1967)
- 54 LIEBE, v. S.:
Inaug. Diss.
München (1971)
- 55 LINN, B. S.,
JENSEN, J. A.,
PARDO, V.,
DARIES, D.,
FRANKLIN, L.:
Relationship between structural and functional
changes in rejecting renal xenograft
Transpl. Proc. Vol. III, No. 1, 527 (1971)
- 56 LOWENHAUPT, R.,
NATHAN, P.:
Early accumulation of platelets in allotrans-
plants of the dog kidney observed by electron
microscopy
J. Cell. Biol. 35, 83 (1967)
- 57 LUCAS, D. R.:
Physiological and pharmacological properties
of the ureter
Amer. J. Physiol. 22, 245 (1908)
- 58 LUSTINEC, K.:
Vasoconstrictor properties of blood in per-
fusion experiments
Physiol. Bohemoslov. 14, 483 (1965)
- 59 MANDELBAUM, I.,
BURNS, W. H.:
Pulsatile and nonpulsatile blood flow
J. M. M. A. 191, 657 (1965)

- 60 MARCEAU, J. P.,
HALLENBECK, G. A.,
ZOLLMAN, P. E.,
BUTLER, H. C.,
SHORTE, R. G.:
A comparison of autoplasmic allogenic and
xenogenic perfusion of isolated kidneys
J. Surg. Res. 5, 492 (1965)
- 61 MARX, G. H.:
A capillary membrane-oxygenator utilizing
gas dispersed in oil
Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs XVI,
381 (1970)
- 62 MARX, G. H.:
Inaug. Diss.
München (1969)
- 63 MARX, T. I.,
SNYDER, W. E.,
ST. JOHN, A. D.,
MOELLER, C. E.:
Diffusion of oxygen into a film of blood
J. Appl. Physiol. 15, 1123 (1960)
- 64 MENDLER, K.,
WEISSHAAR, E.,
BRENDL, W.:
Eine Herz-Lungen-Maschine für Ratten als
experimentelles Modell der extracorporalen
Zirkulation
Thoraxchirurgie 17, 534 (1969)
- 65 MESSMER, K.,
HAMMER, C.,
LAND, W.,
FIEDLER, L.,
KLÖVEKORN, W. P.,
HOLPER, K.,
LOB, G.,
MERZEL, D.,
BRENDL, W.:
Modification of hyperacute xenogenic kidney
rejection
Transpl. Proc. Vol. III, No. 1, 542 (1971)
- 66 MESSMER, K.,
SCHMIDT-MENDE, M.:
Die Kältevasokonstriktion der Nierengefäße
Zeitschr. ges. exp. Med. 139, 468 (1965)
- 67 MOORE, F. D.:
Metabolic response to injury
in: Manual of Preoperative and Postoperative
Care edited by: H. T. Randall; J. D. Hardy;
F. D. Morre, W. B. Saunders Company (1967)
- 68 MOVAT, H. Z.,
MUSTARD, J. F.,
TAICHMAN, N. S.,
URINHARA, T.:
Platelet aggregation and release of ADP,
serotonin and histamin associated with
phagocytosis of antigen-antibody complexes
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 120, 232 (1965)

- 69 MOZES, M. F.,
GEWURZ, H.,
GUNARSON, A.,
MOBERG, A. W.,
WESTBERG, N. G.,
JETZER, T.,
NAJARIAN, J. S.: Xenograft rejection by dog and man: Isolated kidney perfusion with blood and plasma
Transpl. Proc. Vol. III, No. 1, 531 (1971)
- 70 NAKAYAMA, K.,
TAMIYA, K.,
YAMAMOTO, K.,
IZUMI, T.,
AKIMOTO, S.,
HASHIZUME, S.,
JIMOI, T.,
ODAKA, M.,
YAZAWA, C.: High-amplitude pulsatile pump in extracorporeal circulation with particular reference to hemodynamics
Surgery 54, 798 (1963)
- 71 NIZET, A.: Influence of serumalbumin and dextran on sodium and water excretion by the isolated dog kidney
Pflügers Archiv 301, 7 (1968)
- 72 NIZET, A.,
CYPERS, Y.,
DEETJEN, P.,
KRAMER, K.: Functional capacity of the isolated perfused kidney
Pflügers Archiv 296, 179 (1967)
- 73 OUCHTERLONY, Ö.: Acta path. microbiol. scand. 26, 507 (1949)
- 74 PAQUET, K. J.: Hemodynamic studies on normothermic perfusion of the isolated kidney with pulsatile and non pulsatile flows
Edizioni Minerva Medica
- 75 PAQUET, K. J.,
DIETMANN, K.,
KREUTZBERG, B.,
DOHMEN, M.,
BERNHARD, A.: Experimenteller Beitrag zur Frage der kontinuierlichen und pulsatorischen Perfusion
Langenbecks Arch. Klin. Chir. Bd. 304, 735 (1963)
- 76 PERPER, R. J.,
NAJARIAN, J. S.: Experimental renal heterotransplantation I. In widely divergent species
Transplantation 4, 377 (1966)
- 77 PICHELMAIER, H.: Persönliche Mitteilungen

- 78 PIELSTICKER, K.,
SCHILLING, A.,
ALDENHOFF, J.,
LAND, W.:
Untersuchungen zur perakuten Abstoßung
xenotransplanterter Nieren
München (in Druck)
- 79 REEMTSMA, K.,
MC. CRACKEN, B.H.,
SCHLEGEL, J.U.,
PEARL, M.A.,
DE WITT, C.W.,
SCHMITH, P.E.,
HEWITT, R.L.,
FLINNER, R.L.,
CREECH, O.:
Renal heterotransplantation in man
Ann. Surg. 160, 384 (1964)
- 80 REEMTSMA, K.:
Verbalization "heterograft versus xenograft"
New Engl. J. Med. 272, 380 (1965)
- 81 REEMTSMA, K.
Heterotransplantation
Transpl. Proc. I, 251 (1969)
- 82 REEMTSMA, K.,
MC CRACKEN, B.H.,
SCHLEGEL, J.U.,
PEARL, M.A.,
DE WITT, C.W.,
CREECH, O.:
Reversal of early graft rejection after renal
heterotransplantation in man
JAMA 187, 691 (1964)
- 83 RETIK, A.B.,
HOLLENBERG, N.K.,
ROSEN, S.M.,
MERRILL, J.P.,
MURRAY, J.E.:
Cortical ischemia in renal allograft rejection
Surg. Gyn. & Obst. 124, 989 (1967)
- 84 SARA JAS, H.S.S.,
KRISTOFFERSON, R.,
FRICK, M.H.:
Release of adenosine triphosphate and seroto-
nin from injured cellular blood elements in
extracorporeal circuits
Nature 184, 1127 (1959)
- 85 SCHILLING, A.,
ALDENHOFF, J.:
Eigene Untersuchungen
München (1970)
- 86 SCHMIDT-MENDE, M.,
BRENDDEL, W.,
MESSMER, K.:
Die Vasokonstriktion der Nierengefäße in
Hypothermie
Pflügers Arch. ges. Physiol. 278, 100 (1963)

- 87 SCHNERMANN, J.: Persönl. Mitteilungen
- 88 SCHUMER, W.: Metabolic considerations in the preoperative evaluation of the surgical patient
Surg. Gynec. & Obst. 121, 611 (1965)
- 89 SNYDER, G.B.,
BALLESTEROS, E.,
ZARCO, R.M.,
LINN, B.S.: Prolongation of renal xenografts by complement suppression
Surg. Forum. 17, 478 (1966)
- 90 STARZEL, T.E.,
MARCHIOVO, T.L.,
PETERS, G.N.,
KIRKPATRICK, C.H.,
WILSO, W.E.C.,
PORTER, K.A.,
RIFKIND, D.,
ODGEN, D.A.,
HITCHCOCK, C.R.,
WADELL, W.R.: Renal heterotransplantation from baboon to man: Experience with 6 cases
Transpl. 2, 752 (1964)
- 91 STEVENS, L.E.,
SWENSON, F.C.,
FREEMAN, J.S.: Preservation of kidneys in vitro-value of hypothermia
Amer. J. Surg. 112, 728 (1966)
- 92 STEYN, J.,
MOBLEY, T.L.,
SUWANAGUL, A.: Factors influencing extracorporeal perfusion of the isolated kidney
Brit. J. Urol. 38, 657 (1966)
- 93 SWANK, R.L.,
FELLMAN, J.H.,
HISSEN, W.W.: Aggregation of blood cells by 5-hydroxytryptamine (Serotonin)
Circ. Res. 13, 392 (1963)
- 94 THURAU, K.: Renal hemodynamics
Am. J. Med. 36, 698 (1964)
- 95 ULLMANN, E.: Experimentelle Nierentransplantation, vorläufige Mitteilung
Wien. Klin. Wschr. 15, 281 (1902)
- 96 UNGER, E.: Nierentransplantationen
Berl. klin. Wschr. 47, 573 (1910)
- 97 VAERMANN, J.P.,
HEREMANS, J.F.: The immunoglobulins of the dog, II. The Immunoglobulins of canine secretions
Immunchemistry Vol 6, 779 (1969)

- 98 WEISS, C.: Erfahrungen über den Einfluß von Plasmaersatzpräparaten auf Gelatinebasis
in: Symposion in Hamburg am 12. 1. 1968
Herausgeg.: K. Horatz, G. Thieme Verlag,
Stuttgart S. 24
- 99 WELLS, R.,
STELLANBYGDEMAN, M.,
SHAHRIARI, A.,
MATLOFF, J. M.: Influence of a defoaming agent upon the hematological complications of a pumpoxygenator
Circ. 37, 638 (1968)
- 100 WINTON, F. R.:
zitiert von
THURAU K. in: Renal Hemodynamics
Am. J. Med. 36, 698 (1964)
- 101 YAMAZAKI, H.: Appearance of platelet-clumping substance
after acidification of plasma
Blood Vol 31, No. 3 (1968)

Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. W. Brendel gilt mein Dank für die Überlassung des Arbeitsplatzes in seinem Institut.

Herrn Dr. W. Land danke ich für die Einführung in das experimentelle Arbeiten, sowie für manchen Rat im Verlauf der Experimente.

Für technische Unterstützung und stete Hilfsbereitschaft danke ich Fräulein G. Brons, Fräulein A. Gruber und Fräulein G. Höbel.

LEBENS LAUF

10. 2. 1944 geboren in Freiburg als Sohn des Dipl. -Ing. Hermann Schilling und seiner Ehefrau Trudi, geb. Wetzels.
- 1950 Schuleintritt in der Gutenberg-Schule Karlsruhe .
- 1963 Reifeprüfung am Gymnasium Ettlingen.
Nach halbjährigem Praktikum in einer Maschinenfabrik Beginn des Maschinenbaustudiums an der T. U. Berlin.
- 1966 Vordiplom in Maschinenbau an der T. U. Berlin.
- 1967 Beginn des Medizinstudiums an der Universität München und Abbruch des Maschinenbaustudiums, nachdem ein Doppelstudium nicht genehmigt wurde. Naturwissenschaftliche Vorprüfung im SS 1967, ärztliche Vorprüfung im WS 1968/69.
- 1969 Beginn der Mitarbeit im Institut für Chirurgische Forschung .
- Frühjahr
1972 ärztliche Prüfung

